

**Der Einfluß von Dicarbonsäuren auf die
Fettsäuresynthese in vitro**

Götz Goede

1964



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER
UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

Der Einfluß von Dicarbonsäuren auf die Fettsäuresynthese in vitro

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Götz Goede
aus Berlin

München 1964

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.Walter SEITZ

Dekan: Prof.Dr.Otto HUG

Tag der mündlichen Prüfung: 13.10.1964



INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung

Vorbemerkungen über die Fettsäuresynthese
und Problemstellung der Arbeit

II. Methodik

III. Ergebnisse

1. Oxalsäure
2. Malonsäure
3. Bernsteinsäure
4. Glutarsäure
5. Adipinsäure
6. Pimelinsäure
7. Korksäure
8. Azelainsäure
9. Sebazin-, Decan 1 - 10-, Undecan-
dicarbonsäure

IV. Diskussion

V. Zusammenfassung

VI. Literaturverzeichnis

EINLEITUNG

Die eigentlichen Fette dienen als Reservestoffe von hohem Caloriengehalt und werden in grösseren Mengen bei den Warmblütern abgelagert. Viele andere fettartige Stoffe sind wesentliche Protoplasmabestandteile, welchen u.a. auch eine besondere struktur- und membranbildende Funktion und damit Bedeutung für die Zellpermeabilität zukommt.

Gemäss ihrer Struktur werden die Fette eingeteilt in Neutralfette, Phospholipide, Steroide, Cerebroside, Carotinoide und Wachse. Die in diesem Zusammenhang vornehmlich interessierenden Neutralfette sind Tri-Ester des Glycerins mit Fettsäuren. Im Organismus kommen neben diesen Triglyceriden auch Di- und Monoglyceride vor. Die Neutralfette stellen ein Gemisch von verschiedenen Triglyceriden, d.h. von Glyceriden mit jeweils verschiedenen Fettsäuren im Molekül und Di- und Monoglyceriden dar. Da die Fettsäuren in ihrer Zusammensetzung zum grossen Teil von der Ernährung abhängig sind, bestehen sie demnach aus gesättigten und ungesättigten Säuren. Der Anteil der ungesättigten oder essentiellen Fettsäuren ist gegenüber den gesättigten wesentlich geringer. Die beim Warmblüter mengenmässig überwiegend vorkommenden Fettsäuren sind Palmitin- mit 16 C-Atomen und Stearinsäure mit 18 C-Atomen.

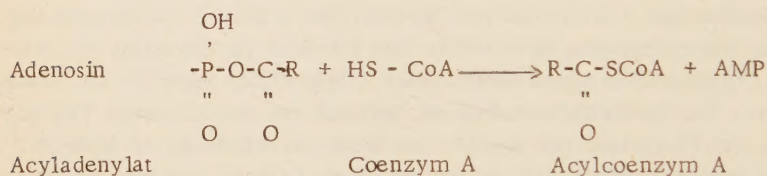
Bei den Vorgängen der Fettresorption sind noch nicht alle Fragen geklärt, es lässt sich aber folgendes sagen: Die vom Organismus aufgenommenen Fette werden zunächst im Magendarmtrakt durch die dort reichlich vorhandenen Lipasen hydrolysiert. Danach werden die dabei entstehenden wasserlöslichen Substanzen, nämlich Glycerin und die nieder- bis mittelkettigen Fettsäuren einschliesslich Myristinsäure von der Blutbahn über das Pfortadersystem (1) aufgenommen. Die wasserunlöslichen Bestandteile gelangen mit Hilfe eines emulgierenden Systems, bestehend aus Di- und Monoglyceriden, gallensauren Salzen und den aus den Fettsäuren entstandenen Seifen in das Lymphsystem des Darmes (2).

Neben der Resorption von Fett gibt es auch eine Sezernierung von Körperfett in das Darmlumen, sogar bei fettarmer aber reichlicher Ernährung (3), der Grund hierfür scheint nicht klar zu sein. In den Epithelzellen der Darmwand erfolgt weitgehende Umesterung und Neubildung von Fettsäuren. Fast alles Fett gelangt in Bindung an Globuline zur Leber, bevor es in Depotfette eingebaut wird. Vor allem Phospholipide werden in der Leber synthetisiert, so dass sich das Verhältnis Neutralfette: Phospholipide zugunsten letzterer verschiebt, was verständlich scheint, wenn man weiss, dass die Phospholipide die Transportform der Fette

darstellen.

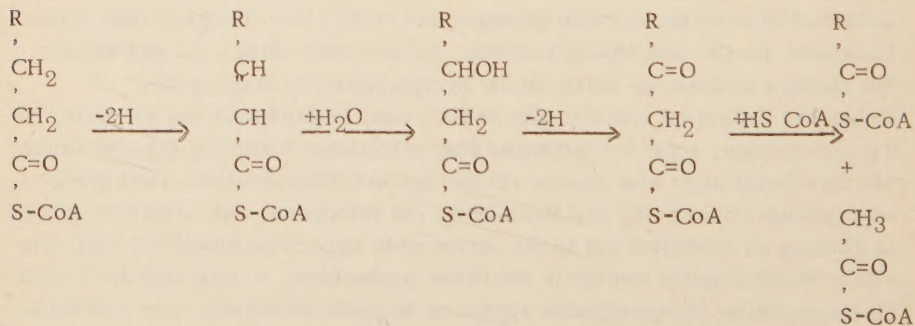
Der oxydative Abbau der Fette nach Grien (4) und Lynen (5) wird durch Spaltung der Ester in Glycerin und freie Fettsäuren eingeleitet, wobei diese Hydrolyse durch Lipasen und Esterasen katalysiert wird. Das Glycerin kann in der Leber über Triosephosphat in den Kohlenhydrat-Stoffwechsel eingehen (6).

Fettsäuren werden vor der Oxydation mit Hilfe von CoA in eine energiereichere Verbindung überführt. Diese Reaktion erfordert die Mitbeteiligung von ATP und spezifischen Enzymsystemen, den sogenannten Thiokinasen. Es konnten 2 Zwischenstufen ermittelt werden, von denen die erste zur Bildung einer Adenylfett-säure (Acyladenosinmonophosphat) (7) führt. Der zweite Schritt besteht in einer Übertragung der Acylgruppe von der Adenylsäure auf das CoA (8).



Diese Acylcoenzyme stellen die aktive Form der Fettsäuren dar und durchlaufen eine Reihe von Reaktionen, die als β -Oxydation bezeichnet werden. β -Oxydation deshalb, weil die Oxydation am β -C-Atom der Kohlenstoffkette angreift und somit zur schrittweisen Abspaltung von Essigsäuremolekülen führt. Der Mechanismus geht mit Hilfe spezifischer Fermente, schematisch betrachtet, in vier Schritten vor sich:

1.) Dehydrierung in α - β -Stellung, 2.) Wasseranlagerung an die Doppelbindung unter Bildung einer β -Hydroxylsäure, 3.) Dehydrierung zur β -Ketosäure, 4.) Thiolyse, d.h. Spaltung der Kohlenstoffkette durch Wirkung der Thiolgruppe des CoA.



Die Fettsäure geht aus dieser Reaktion mit einem um 2 C-Atome verkürzten Gerüst hervor. Gleichzeitig ist durch den Eintritt des zweiten CoA Moleküls diese verkürzte Fettsäure wieder aktiviert worden, so dass der Fettsäurezyklus in Richtung des Abbaues fortgesetzt werden kann. Diese Reaktionsfolge spielt sich so oft ab, bis die Fettsäure weniger als 4 C-Atome besitzt. Im Falle geradzahliger Ketten ist das Endprodukt Acetyl-CoA, bei ungeradzahligen Propionyl-CoA. Während die C_2 -Fragmente in Form von Acetyl-CoA Molekülen in den grossen Pool dieser Verbindung einmünden und dort vorwiegend der biologischen Oxydation im Zitronensäurezyklus zugeführt werden, kann Propionyl-CoA nur durch Anlagerung von CO_2 in Bernsteinsäure umgewandelt, dem Organismus zugänglich gemacht werden (9).

Aufbau und Abbau der Fette stehen wie alle biologischen Vorgänge in dynamischem Gleichgewicht, es dürfen daher die Reaktionen der Fettoxydation weitgehend als Umkehrung der Reaktionen der Fettsynthese angesehen werden, obwohl Oxydation und Synthese räumlich zu trennen sind, d.h. die Enzyme der Oxydation sind wie der Zitronensäurezyklus in den Mitochondrien lokalisiert, die der Synthese im Cytoplasma (10), da in den Mitochondrien kein genügender DPNH und TPNH-Spiegel für die reduktiven Vorgänge der Fettsäuresynthese erreicht werden kann (11). Eingeleitet wird also der biologische Aufbau der Kohlenstoffketten der Fettsäuren durch die Kondensation zweier Moleküle Acetyl-CoA zu Acetacetyl-CoA. Zwischenprodukt bei diesem ersten Schritt ist Malonyl-CoA (12,13), daß durch Anlagerung von CO_2 an Acetyl-CoA unter Mitwirkung von ATP und einem biotinhaltigen Enzym entsteht. Die dabei gebildete aktive CH_2 -Gruppe reagiert leicht mit Acyl-CoA, diese unbeständige Verbindung spaltet CO_2 ab und es entsteht die β -Ketosäure. Von der Bildung von Acetacetyl-CoA an, findet der weitere Aufbau als Umkehr der β -Oxydation statt.

Zwei Mol aktivierter Fettsäure verbinden sich dann mit dem aus dem KH-Stoffwechsel stammenden Dihydroxyacetonphosphat zu Diglyceridphosphat. Dieses wird dephosphoryliert und geht mit einem weiteren Mol Acyl-CoA in Reaktion.

Beim Abbau der Fettsäuren wird grundsätzlich, aber nicht ausschliesslich der Weg der β -Oxydation beschritten. Liegen die Fettsäuren in Form von Verbindungen wie Ester oder Säureamide vor, so dass die Carboxylgruppe der Einwirkung der Enzyme entzogen ist, so wird die endständige Methylgruppe angegriffen. Durch Oxydation dieser Methylgruppe wird eine neue Carboxylgruppe geschaffen und die Fettsäure kann dann durch β -Oxydation weiter abgebaut werden. Diesen Vorgang nennt man Q-Oxydation. Schwer spaltbare Fettsäureester oder -amide werden daher als Dicarbonsäuren ausgeschieden.

Verkade und Mitarbeiter (17) zeigten, dass Menschen und Hunde nach grossen

Gaben von Triglyceriden der Undecan-Caprin- und Caprylsäure kleinere Mengen der entsprechenden Dicarbonsäuren (Undecandicarbon-Sebazin-Azelain- und Korksäure) im Harn ausscheiden. Sie folgerten daraus, dass prinzipiell alle Fettsäuren zunächst der Q-Oxydation unterliegen, um anschliessend bilateral β -oxydiert zu werden. Auch Flaschenträger und Bernhard (18) konnten nach Verfüttierung von Fettsäuren, Fettsäureestern oder -amiden mit 8, 9 oder 10 C-Atomen Dicarbonsäuren aus dem Harn isolieren. Sie stellten jedoch fest, dass die Q-Oxydation nur einen Nebenweg des Abbaues bildet, der beschränkt wird, wenn, wie bereits erwähnt, die Carboxylgruppe nicht frei ist oder, in geringem Umfang, bei den Säuren mit 8 - 10 C-Atomen.

Wie Bernhard (19) unter Verwendung deuteriumhaltiger Fettsäuren ferner zeigen konnte, werden die in der Nahrung hauptsächlich enthaltenen Fettsäuren mit 16 - 18 C-Atomen von der Q-Oxydation nicht betroffen.

Unter Dicarbonsäuren versteht man nach der chemischen Definition Fettsäuren mit zwei Carboxylenden. Es sind durchweg Substanzen von guter Kristallisierbarkeit. Die ersten Glieder der homologen Reihe lösen sich in Wasser beträchtlich, die höheren weniger, die Säuren mit unpaarer C-Atomzahl reichlicher als die mit paarer. Sie besitzen höhere Dissoziationskonstanten als die einbasischen Fettsäuren, sind also stärkere Säuren. Die Dissoziation erfolgt in zwei Stufen, Zuerst zum einwertigen, dann zum zweiwertigen negativen Ion. Der Schmelzpunkt fällt mit steigender C-Atomzahl, die Glieder mit gerader C-Atomzahl schmelzen höher als die mit ungerader.

In der Nahrung spielen Dicarbonsäuren keine wesentliche Rolle, sie sind vermehrt zu finden in verschiedenen Arten von Früchten und Ölen. Ihre biologische Bedeutung ist noch nicht hinlänglich bekannt, nur bei den physiologisch vorkommenden Säuren mit niedriger C-Atomzahl wurden etliche Stoffwechselwirkungen schon genauer untersucht.

Das Cyclophorasesystem der Niere ist instande, Dicarbonsäuren zu CO_2 und H_2O zu oxydieren (78). Die Affinität des Systems nimmt mit steigender C-Atomzahl rasch ab. Mitochondrien anderer Organe sind zu dieser Oxydation nicht befähigt.

Die Untersuchungsergebnisse von Verkade (20) und Bernhard (21) lassen folgende grobe Unterteilung der homologen Reihe der Dicarbonsäuren zu:

1.) Die kurzkettigen Säuren von C_2 - C_7 , sie sind im Pflanzenreich weit verbreitet, zeigen gute Wasserlöslichkeit und stärkere Dissoziation. Ihre Verwertbarkeit im menschlichen Organismus ist gut, die Ausscheidung im Harn blieb nach Fütterungsversuchen, abgesehen von Adipin- (C_6) und Pimelinsäure (C_7) gering. Die vermehrte Ausscheidung dieser beiden Säuren lässt auf eine gewisse

Mittelstellung schliessen.

2.) Die mittelkettigen Dicarbonsäuren von C_8 - C_{11} , können im Organismus durch β -Oxydation aus den homologen einbasischen Fettsäuren oder aus solchen Säuren entstehen, die an ihrer Carboxylgruppe blockiert sind. Sie werden vom Organismus nur schlecht ausgenutzt und meist unverändert wieder ausgeschieden. Nach Verfütterung dieser Säuren fanden sich bis zu 60 Prozent der verabreichten Menge im Harn wieder.

3.) Die langkettigen Dicarbonsäuren ab C_{12} : Ihre Bedeutung für den Stoffwechsel ist gering, in der Nahrung kommen sie kaum vor. Ihre Verwertbarkeit für den tierischen Organismus ist besser als bei den mittelkettigen Säuren.

Die toxische Wirkung der zweibasischen Säuren ist sehr gering, da sie im Organismus nicht gespeichert werden. Lang und Bartsch (22) stellten in Fütterungsversuchen an Ratten fest, dass über eine Zeitdauer von 33 Wochen, Säuredosen von 40 mg/die ohne nachweisbare Schäden vertragen wurden.

Dass man sich mit dem Fettstoffwechsel, besonders in den letzten Jahren, so intensiv beschäftigte, wird seine Ursache darin haben, dass noch nicht alle Zusammenhänge zwischen Atherosklerose und Lipoidstoffwechsel geklärt sind. Dank der Isotopentechnik konnten auch auf diesem Gebiet schon beachtliche Fortschritte erzielt werden.

Die Leber macht gewichtsmässig nur wenige Prozente des Körpers aus, trotzdem nimmt sie als Zentralorgan des intermediären Stoffwechsels am Gesamtenergieumsatz in weitaus grösserem Ausmass teil. Die Bedeutung dieses Organes für den Fettstoffwechsel ist schon daraus ersichtlich, dass alle Fette die Leber passieren müssen.

Scodak und Lipmann (14) stellten aus Taubenlebern einen Extrakt her, der in Gegenwart von CoA und bei Zugabe von ATP als Energiequelle imstande ist, aus Essigsäure Acetacetat aufzubauen. Auch gereinigte Phosphotransacetylase und Taubenleberextrakt können nach Zusatz von CoA aus Acetylphosphat Acetessigsäure bilden (15). Brady konnte zeigen, dass ein aus Taubenlebern dargestelltes Enzymsystem langkettige Fettsäuren aus Acetaldehyd und Malonyl-CoA in Gegenwart von TPNH und Mn aufbauen kann (13). Auch die Glyceridneubildung findet ausschliesslich in der Leber statt (16).

Neben dem bekannten Einfluss von Dicarbonsäuren als Zwischenprodukt beim Abbau der Fettsäuren und im Zitronensäurezyklus, ist über ihre Mitwirkung bei der Fettsäuresynthese noch wenig erforscht. Diese Tatsache schien Berechtigung genug, sich mit ihrem Verhalten näher zu befassen. Die vorliegende Arbeit hat als Aufgabe, fördernde und hemmende Einwirkungen von Dicarbonsäuren auf die Fettsäuresynthese in vitro festzustellen. Wieweit unterscheiden

sich die einzelnen Glieder der homologen Reihe voneinander und können Gemeinsamkeiten im physikalisch-chemischen und biologischen Verhalten gefunden werden. Es konnten mit Ausnahme der Nonandicarbonsäure, die nicht erhältlich war, alle Säuren von C_2 - C_{13} untersucht werden.

METHODIK

Als Versuchsgrundlag dienten Präparationsangaben, die Brady und Gurin (23) zur Neubildung von Fettsäuren angegeben hatten. Danach sind Lebern von gut gefütterten Tauben für Versuche zur Fettsäuresynthese sehr geeignet, da sie die nötigen Fermente für Synthese, Glykolyse und Atmung ausreichend enthalten. Verwendet wurde hier die Leber von Tauben, die zuvor etwa drei Tage mit Weizenkörnern gut gefüttert waren.

Präparation des Enzymsystems

Mittels Scherenschlag wurden drei bis vier Tauben decapitiert, danach sofort die Lebern entnommen und in Eiswasser gelegt. Organe, die schon makroskopisch durch Verfärbung, Verfettung, Tumoren oder starke Verwachsungen auffielen, kamen für die Weiterverarbeitung natürlich nicht mehr in Betracht. Nach der Säuberung von Bindegewebe, Fett und Blutgerinnsel wurden die Lebern grob zerkleinert, mit Filterpapier getrocknet und gewogen. Dem Lebergewicht wurde die 1,2-fache Menge Phosphat-Hydrogencarbonat-Puffer zugesetzt, das Gemisch sodann in 3-4 kleinere Portionen im Potter-Elvehjem-Apparat homogenisiert.

Die Zusammensetzung des Puffers nach v. Brand und Helmreich (24): 0,085 m K_2HPO_4 , 0,009 m KH_2PO_4 , 0,07 m $KHCO_3$ zu gleichen Teilen, pH 7,4.

Das erhaltene Homogenat wird zunächst 45 Minuten bei 2000 U/min zentrifugiert, der gewonnene Überstand mit dem gleichen Puffer nochmals soweit verdünnt, dass auf 3 Teile Leber 4 Teile Puffer kommen und weitere 75 Minuten bei 25 000 U/min zentrifugiert. Der Überstand (supernatant fluid = Sup) wird abgegossen, es ist nun ein Enzymsystem gewonnen, das alle löslichen Fermente der Fettsäuresynthese, der Glykolyse und der Atmung enthält. Um das wärmeempfindliche Fermentsystem nicht zu zerstören, wurden alle Arbeitsgänge bei annähernd 0° durchgeführt.

Inkubation

Die meist geringen Mengen der zu testenden Dicarbonsäuren konnten nicht mehr eingewogen werden, es wurden daher entsprechende Mengen einer alkoholischen Lösung in Warburgkölbchen von 20 ml Fassungsvermögen einpipettiert und der

fermentschädigende Alkohol anschliessend im Trockenschrank verdampft.

Zu den eingedampften Säuren wurde dann MgCl_2 , Na-Citrat, akt. C^{14} Na-Acetat und Enzympräparate in folgenden optimalen Mengen pro Kölbchen pipettiert:

0,1 ml	MgCl_2	0,006 m	Endkonz.
0,1 "	Na-Citrat	0,01 "	" "
0,4 "	^{14}C Acetat (110 000 Imp/min)	0,008 "	" "
2,4 "	Enzympräparat		
3,0 ml	Gesamtvolumen		

Um eine Vergleichsmöglichkeit zu haben, befand sich bei jeder Versuchsreihe ein Kölbchen, in dem zwar alle zur Fettsynthese nötigen Enzyme und Co-Enzyme, aber keine Dicarbonsäuren enthalten waren. Hierauf wurden die verschlossenen Kölbchen in das Wasserbad der Warburg-Apparatur gehängt und die Ansätze unter ständigem Schütteln bei 38°C drei Stunden lang inkubiert. Vor und nach der Inkubation wurde der pH-Wert gemessen.

Isolierung der radioaktiv markierten Fettsäuren.

Nach Beendigung der Inkubation wurde der Inhalt der Warburg-Gefässe in Rundkölbchen von 50 ml Volumen umgefüllt und mit 7 ml aqua bidest nachgespült. Das Gemisch in den Rundkölbchen wurde sodann zusammen mit 5 ml 30%iger alkoholischer KOH und 25 mg Palmitinsäure als Trägersubstanz vier Stunden lang am Rückflusskühler verseift. Nach der Verseifung und dem Abkühlen der Kölbchen wurde deren Inhalt, in dem die Fettsäuren als Kaliumsalze vorlagen, zusammen mit etwa 20 ml Petroläther in Scheidetrichter gefüllt. Durch Ansäuern mit 18%iger HCl bis zum Umschlag des Indikators, Bromkresylgrün-Methylorange, wurden die Fettsäuren aus ihren Salzen verdrängt, daraufhin durch viermaliges Ausschütteln mit Petroläther aus dem Verseifungsgemisch extrahiert und über einem Wasserbad langsam eingedampft. Der Rückstand wurde mit Petroläther gelöst und in einem 10 ml Kölbchen bis zur Marke aufgefüllt.

Bestimmung der Radioaktivität

Nach der direkten Methode von Entenman (25) wurde 1 ml des gewonnenen, die Fettsäure enthaltenden, Petrolätherauszugs auf ein mit Lens-Papier $\sqrt{\text{ }}$ bedecktes Aluminiumplättchen mit Rand (Durchmesser 2,5 cm) mittels Pipette

$\sqrt{\text{ }}$ Im Handel erhältliches mit Silikon getränktes Papier, das zur Reinigung von Brillengläsern und dergleichen dient.

getropft. Der Petroläther verdunstete, die gelösten Fettsäuren verteilen sich gleichmässig auf dem Plättchen und konnten dann im Geigerzähler gemessen werden. Von jeder Probe wurden 4 Plättchen gegossen und mit einem β -Fensterzählrohr dünner Belegung (1 mg/cm^2) /¹⁷ bei konstanter Arbeitsspannung und gleichbleibendem geometrischen Abstand gemessen. Die vier Werte wurden gemittelt, ein zuvor berechneter Leerwert der Luft oder des Apparates abgezogen und, um eine Vergleichsbasis zu erhalten, wurden die Ergebnisse auf $2,5 \times 10^4 \text{ Imp/min}$ einer ^{14}C Standardfolie umgerechnet. Zur Bestimmung der spezifischen Aktivität d.h. der Aktivität pro Milligramm Trockensubstanz, mussten Gewichtsbestimmungen vorgenommen werden, da sich die spezifische Aktivität aus dem Quotienten Gesamtaktivität/Gewicht errechnet. Zu diesem Zweck wurden von den Lösungen aliquote Mengen (2 ml) in Wagegläschen pipettiert, eingedampft und bei 105° bis zur Gewichtskonstanz aufbewahrt. Aus der Differenz Gewicht ohne und mit eingedampfter Lösung, ergibt sich die gesuchte Grösse.

ERGEBNISSE

Da die Ausgangswerte, das sind die Ergebnisse der Versuchsansätze ohne Dicarbonsäurezusatz, aus zum Teil unbeeinflussbaren und wohl auch unerkannten Gründen Schwankungen unterworfen waren, musste ein Weg gefunden werden, um die einzelnen Versuche miteinander vergleichen zu können. (Die Schwankungen beruhten sicher auf einem verschiedenen Gehalt an Fermenten ATP, CoA u.a. in den Ausgangshomogenaten)

Es bewährte sich folgendes Vorgehen: Der Ausgangswert (Supernatant fluid = "sup") wurde gleich 100 % gerechnet und alle erhaltenen Impulszahlen der Versuchsansätze mit Zusatz von Dicarbonsäuren in Prozenten dieses Grundwertes ausgedrückt. Die Werte sind nun ohne weiteres vergleichbar und die gezeichneten Kurven beruhen auch auf diesen Prozentzahlen. Nacheinander werden in Tabellen die Impulse und Prozente der Gesamtaktivität, der spezifischen Aktivität und die Ergebnisse der Gewichtsbestimmungen mit der Versuchsnummer versehen und nach steigender Konzentration des Dicarbonsäurezusatzes aufgeführt. Darunter findet sich der jeweilige Mittelwert. Bei der Wahl der Konzentrationsstärken musste auf 2 Dinge Rücksicht genommen werden. Der pH-Wert durfte nicht zu stark abfallen und der Umschlag von Synthesehemmung auf Förderung bzw. von Förderung auf Hemmung sollte durch möglichst viele Kurvenpunkte gekennzeichnet werden. Beide Probleme sind durch die Anwendung von Konzen-

¹⁷ Geiger Zählgerät der Fa. Frieske und Hoepfner, Erlangen Bruck.

rationen, die im Bereiche von 0,5 - 5 mg liegen, gelöst.

Es erschien der Übersicht halber zweckmässig, die Versuchsergebnisse mit den einzelnen Säuren tabellarisch zu bringen und auch gesondert zu besprechen.

Oxalsäure

Unter den Dicarbonsäuren nimmt dieses erste Glied eine Sonderstellung ein. Auf Grund der weitaus höheren Dissoziationskonstanten ist sie stärker sauer als es die höher-kettigen Säuren sind. Sie ist hitzeunbeständig und zerfällt leicht in CO_2 und H-COOH . In Form von Salzen ist sie im Pflanzenreich und in der Nahrung (Spinat) weit verbreitet. Auch im Blut ist ein gewisser Oxalsäure-Spiegel immer nachzuweisen, er beträgt beim Menschen etwa 0,2 - 0,8 mg %. Die Ausscheidung im Harn beträgt beim Menschen 20 - 50 mg pro Tag. Ist die Ausscheidung wesentlich gesteigert, so kann es zur Ablagerung von Oxalatkonkrementen in Niere und Harnwegen kommen. Da man in der Klinik den Krankheitsbildern von Oxalatsteinen und Oxalose häufig gegenübersteht, ist die Frage von Interesse, weshalb es zu einer Anhäufung von Oxalsäure kommt. Ist das durch vermehrte Zufuhr mit der Nahrung zu erklären? Nach subcutanen Gaben von C^{14} - Oxalsäure an Ratten zeigte nach langfristigen Versuchen die Expirationsluft der Tiere wie Bernhard und Mitarbeiter (26) fanden, stets Aktivität. Ganz im Gegensatz zu den Ergebnissen von Weinhouse und Friedmann (27), deren Experimente sich auch nur über 5 Stunden erstreckten. Bis 8,8 % der applizierten Aktivität wurden auf diese Weise eliminiert. Am grössten war die Ausscheidung der Oxalsäure mit dem Harn, besonders während der ersten Tage. Nach 20 - 25 Tagen enthielt selbst der Knochen noch C^{14} - Oxalat und trat damit als Speicher für solches deutlich in Erscheinung. Auch der stoffwechselfähig dem Menschen nahestehende Hund scheidet kleine Dosen Oxalsäure (etwa 3,6 mg pro kg Körpergewicht) nach subcutaner Injektion bereits nach 24 Stunden zur Hälfte wieder aus. Insgesamt wurden dabei auf renalem Wege 80 - 90 % abgegeben (28).

Injizierte Oxalsäure wird teilweise auch mit der Galle ausgeschieden. Die gesamte Ausscheidung der Oxalsäure unterliegt starken Schwankungen, was vielleicht auch folgendermassen erklärt werden kann. Franke und Hasse (29) haben in Pflanzen und Bakterien eine Oxalsäuredehydrogenase nachgewiesen, welche die Säure zu CO_2 und H_2O oxydiert und dem tierischen Organismus nicht eigen ist. Wie Bernhard weiter zeigen konnte, findet sich bei Tieren mit sterilem Darm kein aktives CO_2 mehr in der Ausatemungsluft. Die Oxalsäure stellt also ein Stoffwechselprodukt dar, das von den Fermenten der tierischen Zelle nicht abgebaut werden kann, wohl aber durch Darmbakterien. Auch der Pilz *Asperillus niger* oxydierte der Nährlösung zugefügtes Oxalat weitgehend zu CO_2 . Die individuell durch die Darmflora bedingten Schwankungen beim Oxalatabbau können somit

eine gewisse Erklärung darstellen für unterschiedliche Ausscheidung und Anhäufung von Oxalsäure im Organismus. Über die Probleme, die sich durch die intermediär gebildete Oxalsäure anbieten, wird noch an anderer Stelle diskutiert werden.

Eigene Ergebnisse

Bei den Versuchen zur Fettsäuresynthese zeigte sich bei der kleinsten Menge (0,5 mg) zugesetzter Oxalsäure ein deutliches Ansteigen der Kurve der spezifischen Aktivität auf 144,6 %, was mit einer aktivitätsmässen Förderung der Synthese bis zu 45 % angesprochen werden kann. Während die Gesamtaktivität den Grundwert knapp überschreitet, ist das Gewicht um 30% vermindert. Bis zum Endwert bei 5 mg gleicht sich die aktivitätsmässige Förderung und die gewichtsmässige Hemmung etwas aus, die Kurven kommen sich entgegen. Die Werte der Gesamtaktivität liegen dabei stets um 100 %.

Oxalsäure

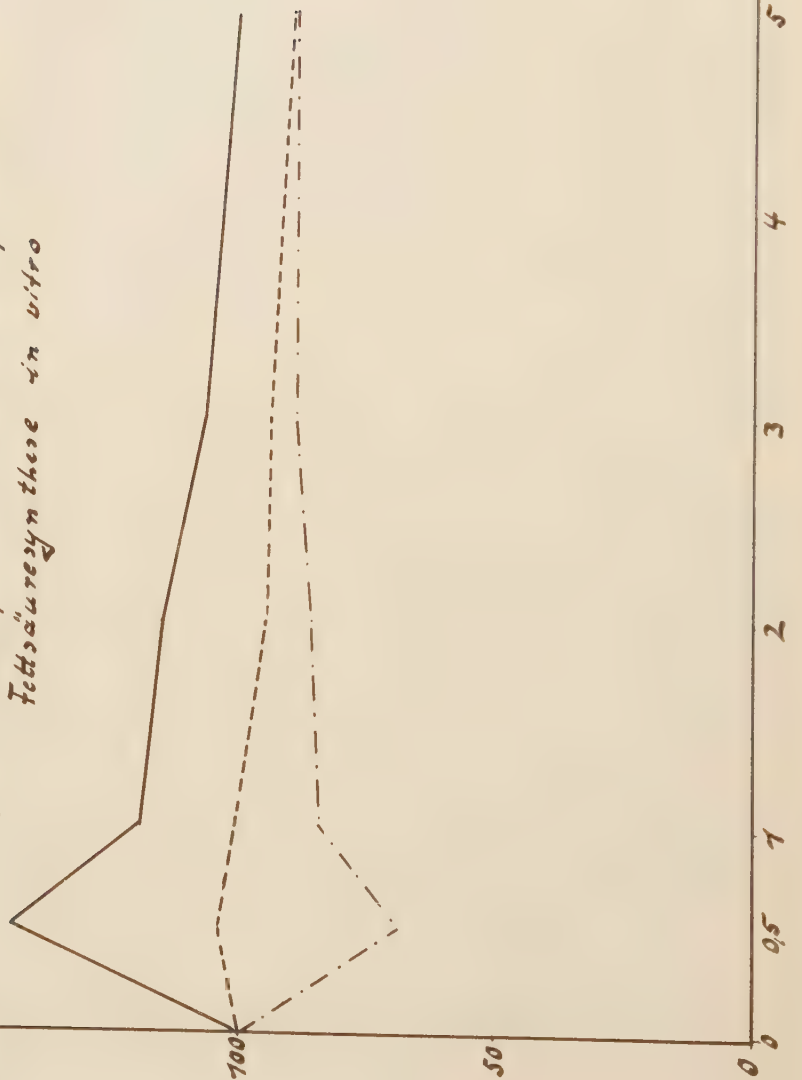
Versuchsnummern 936, 937, 940

Menge in mg pro

Versuchsansatz	0	0,5	1	2	3	5
Ges. Akt. Imp./min.	5600	5880	6120	5251	5596	4964
für 1 ccm Lös.	6500	6930	6220	5970	5620	5700
	3990	4000	3950	3960	3900	3790
Mittelwert	5363,3	5603,3	5430	5060,3	5038,6	4818
Prozente	100	105	109,5	94	100	89
	100	106,5	96	91,7	86,6	87,6
	100	100,5	99	99,3	98	95
Mittelwert	100	104	101,5	95	94,86	90,5
Spez. Akt. Imp./min	470	678	542	449	450	420
für 1 mg Trocken-	508	812	612	562	500	520
substanz	311	417	393	437	396	353
Mittelwert	429,6	635,6	515,6	482,6	448,6	437
Prozente	100	144	115,5	95,5	96	89,5
	100	160	120,5	110,5	98,5	102
	100	134	123	140	127	113
Mittelwert	100	144,6	119,6	115,3	107,16	101,5
Gewicht in mg der	23,8	17,3	22,6	23,4	24,4	23,7
eingedampft.	25,6	16	20,3	21,2	22,5	22
Lös. (2 ml)	25,6	19,2	20,1	21,4	19,7	21,5
Mittelwert	25,0	17,5	21,0	22	22,2	22,4
Prozente	100	72,5	95	93,5	102,5	99,5
	100	62,5	79,5	82,5	88	86
	100	75	78,5	83,5	77	84
Mittelwert	100	70	84,3	86,5	89,16	89,83

Abb. 1

Der Einfluß von Oxalsäure auf die
Fettsäuresynthese *in vitro*



--- Ges. Fkt.
--- Spez. Fkt.
--- Gewicht

Malonsäure

Auch die Malonsäure hat noch eine höhere Dissoziationskonstante als die folgenden Glieder und ist somit noch stärker sauer als beispielsweise die Bernstein- oder Glutarsäure. Bei Hitzeeinwirkung zerfällt sie leicht in CO_2 und $\text{CH}_3\text{-COOH}$. Da diese Säure in kleinen Mengen in Rüben und unreifen Früchten vorkommt, spielt sie auch in der Nahrung eine gewisse Rolle. Malonsäure ist regelmässig in Spuren im Harn zu finden, die Höhe der Ausscheidung ist dabei unabhängig von der Nahrung, wie in Experimenten an Hunden festgestellt wurde (30), Wiswakarma und Lotspeich (31) beobachteten bei Hunden während der Infusion von Citrat, α -Ketoglutarat oder Succinat einen Anstieg der Plasmamalatkonzentration. Die Ausscheidung erfolgt dabei durch Glomerulus-Filtration und Tubulus-Sekretion. Wird nun die Infusion der Säuren aus dem Tricarbonsäurezyklus (TCC) abgebrochen und statt dessen weiter Malonat infundiert, dann hört die tubuläre Sekretion von Malat vollständig auf und man sieht nur noch glomeruläre Filtration und tubuläre Rückresorption von Malat. Diese Befunde zeigen, dass die Tubuli Malat synthetisieren können aus Intermediärprodukten des TCC und dass sich das Malat im Tubulus in zwei Richtungen bewegen kann. Die im Harn ausgeschiedene Malonsäure ist nur ein geringer Prozentsatz der gebildeten, da sie im Stoffwechsel sehr gut abgebaut wird. Nakada und Mitarbeiter (32) konnten mit C^{14} -markiertem Malonat dessen Decarboxylierung durch verschiedene Gewebe der Ratten (Niere, Leber, Herz, Zwerchfell) in vitro nachweisen. In Rattenleberschnitten fand sich die Aktivität des eingesetzten Malonats in isoliertem Acetoacetat wieder, was auch auf die Bedeutung der Malonsäure für die Fettsynthese hinweist. Während Hosoya und Kawada (33) ebenfalls einen Malonsäureabbau bei menschlichem Placentargewebe beobachteten, fanden Litson und Stolen (34) nach Injektionen von Malonsäure mit C^{13} als Carboxyl-C innerhalb 6 Stunden 20-30 % des markierten C als CO_2 in der Ausatemungsluft wieder. Nachdem der Organismus die Malonsäure durchaus verwerten kann und da man weiss, dass sie als Zwischenprodukt bei der Synthese von Fettsäuren auftritt und zudem nach Tietz und Popjak (35) stimulierend auf den Acetateinbau in diese Säuren wirkt, dürfte man sich von ihr eine deutliche Förderung der Fettsynthese erwarten.

Aus den Ergebnissen kann man jedoch nicht ohne weiteres auf eine Förderung schliessen, denn die Gesamtaktivität sinkt von Anfang kontinuierlich bis auf 10 % des Kontrollwertes ab. Auch die Kurve der spezifischen Aktivität sinkt ab bis auf 12 %, allerdings zeigt sie bei der Konzentration von 0,5 und 1 mg noch eine Förderung von 21 bzw. 12 %, was mit biologischer Schwankungsbreite nicht erklärt werden kann. Die Werte der Gewichtszunahmen zeigen bei 2 mg genau das gegenteilige Verhalten zur spez. Aktivität und liegen dann tiefer unter dem Wert der Kontrollen.

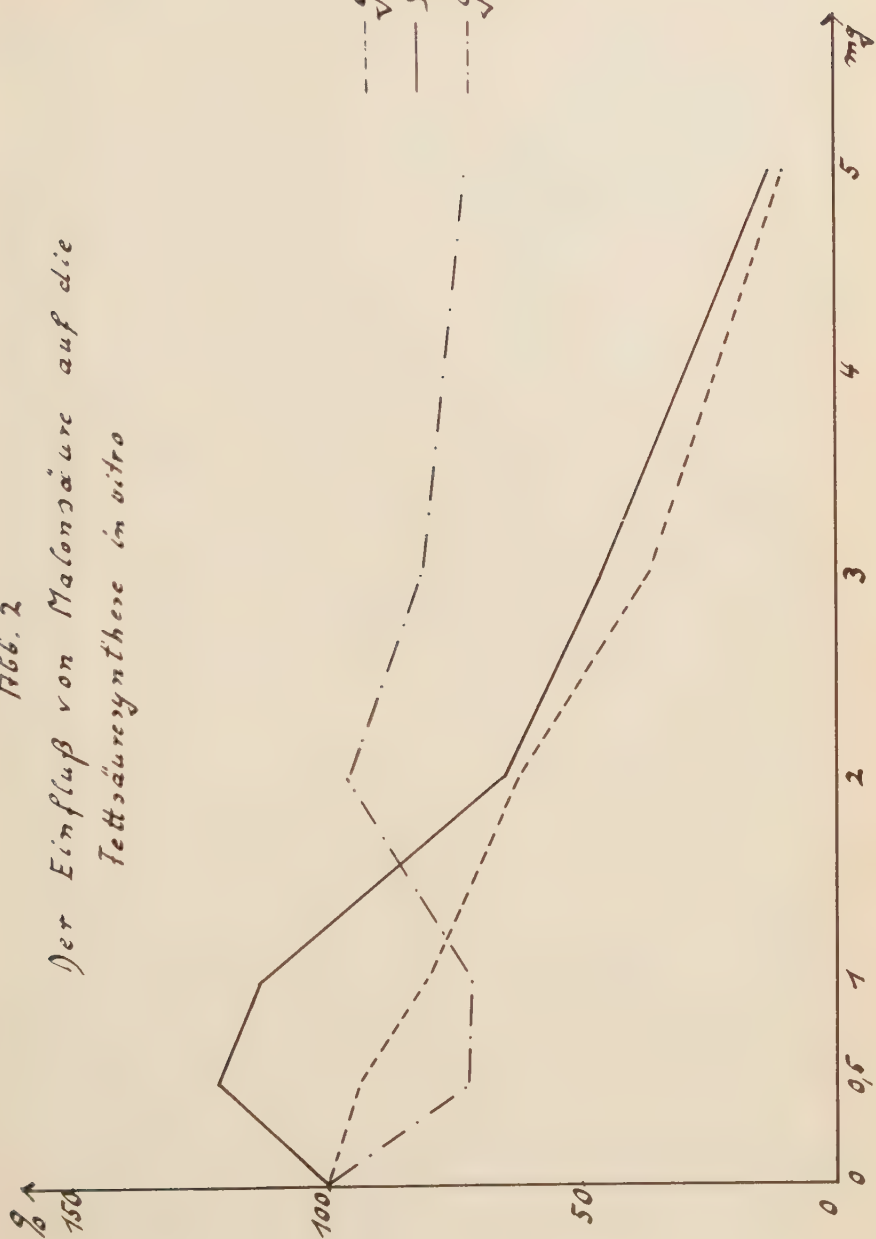
Malonsäure

Versuchsnummern 936, 937, 940

Menge in mg pro Versuchsansatz	0	0,5	1	2	3	5
Ges. Akt. Imp./min	5600	5055	3975	2455	775	73
für 1 ccm Lös.	6500	6100	5180	4380	3350	771
	3990	3950	3640	3110	1940	690
Mittelwert	5363,3	5035	4265	3315	2021,6	511,3
Prozente	100	90,3	71	43,8	13,8	1,3
	100	94	79,5	67,2	51,5	11,9
	100	99	91	78	48,5	17,3
Mittelwert	100	94,43	80,5	63	37,6	10,16
Spez. Akt. Imp./min	470	520	495	223	79	8,6
für 1 mg Trocken-	508	690	658	351	345	98,2
substanz	311	370	328	249	168	50,9
Mittelwert	429,6	526,6	493,6	274,3	197,3	52,6
Prozente	100	110	105	47,5	16,8	1,9
	100	136	128	69	68	19,3
	100	119	105	80	54	16,4
Mittelwert	100	121,6	112,6	65,5	46,26	12,5
Gewicht in mg	23,8	19,3	16	22	19,5	17
der eingedampft. Lös.	25,6	17,7	16	25	19,4	15,7
(2 ml)	25,6	21,3	22,2	25	23,1	23,3
Mittelwert	25	19,4	18,1	24	20,7	18,7
Prozente	100	81	67	92,5	82	71,5
	100	69	62,5	97,5	76	61,5
	100	83	86,5	98	90,5	91
Mittelwert	100	74,3	72	96	82,8	74,6

Abb. 2

Der Einfluß von Malonsäure auf die
Fettsäuresynthese *in vitro*



Die Bernsteinsäure ist mässig wasserlöslich und eine schwache Säure. Den Namen trägt sie nach ihrem Vorkommen im Bernstein. Sie ist in unreifen Stachelbeeren, Weintrauben, Rübensaft und Rhabarberstielen, ja sogar in Braunkohle nachgewiesen, und bildet sich bei bakteriellen Zersetzungen von Äpfel- und Weinsäure und bei Gärungen von Eiweisskörpern (z.B. Casein). Als Säure ist dieses Glied der Dicarbonsäurereihe immerhin noch so stark, dass der grösste Teil von ihr in den Körperflüssigkeiten als Salz vorliegt. Im Blute beträgt ihre Konzentration nach Krebs (36) etwa 0,5 mg/100 ml. An Hunde wurde Bernsteinsäure als Na-Salz iv. gegeben, wobei keine Störung des Wohlbefindens auftrat (37). 1 1/2 Stunden nach Applikation fand sich nur noch 1/4 der Anfangskonzentration im Blut. Nach diesen 1 1/2 Stunden ist Bernsteinsäure also nicht mehr gleichmässig verteilt, die zirkulierende Menge im Blut ist kein Mass für die gesamte zirkulierende Menge im Organismus. Bernsteinsäure wird anscheinend von Depotstellen dem Blut immer wieder zum Transport an Orte zugeführt, wo sie weiter umgeformt werden soll. Die Niere speichert Bernsteinsäure, ob zur späteren Verteilung oder zur Ausscheidung ist nicht klar. Der Mensch scheidet regelmässig kleine Mengen Bernsteinsäure aus, etwa 2 - 12 mg/die (38). Nach stossartiger Glucosebelastung von 250 g pro Tag war eine geringe Erhöhung der Bernsteinsäure-Ausscheidung zu beobachten. Auch nach Fütterung von Anthracen an Ratten wiesen K. Thomas und Mitarbeiter (39) neben vermehrter Methylmalonsäure vermehrte Bernsteinsäure im Harn nach. Dieses gleichsinnige Verhalten bei der Ausscheidung kann als Ausdruck eines Gleichgewichtes zwischen diesen Stoffwechselprodukten angesehen werden, zumal Flavon (40) mit Rattenleberextrakten (in Gegenwart von ATP CoA und Mg^{++}) Methylmalonsäure zu Bernsteinsäure isomerisieren konnte. Da die Bernsteinsäure laufend und in grossem Umfange im Zitronensäurezyklus entsteht, muss darauf noch kurz eingegangen werden. In diesem Zyklus des Endabbaues des intermediären Stoffwechsels entsteht die Bernsteinsäure durch oxydative Decarboxylierung der α -Ketoglutaräure als Succinyl-CoA. In dieser Form kann die Säure den Abbau von freiem Acetacetat durch Übertragung des Co Enzyms A einleiten (41). Durch Succinodehydrogenase wird Bernsteinsäure unter Freisetzung von Energie zu Fumarsäure dehydriert. Anschliessend erfolgt der weitere Abbau über Äpfelsäure unter erneutem Energiegewinn zu Oxalacetat, dem Motor des TCC. Diese soeben erwähnten C_4 -Dicarbonsäuren sind also von ausserordentlicher Bedeutung für den Intermediärstoffwechsel, sie sind Katalysatoren der Zellatmung und an der Übertragung des Wasserstoffes der Nährstoffe von den Coenzymen auf die mit dem O_2 reagierenden eisenhaltigen Zellhämifermente beteiligt, wie Kutscher und Krabbenhöft bestätigen konnten (42). Ausserdem konnte experimentell gezeigt werden, dass ein Zusatz von C_4 -Dicarbonsäure zu Warmblütermuskelbrei eine aerobe

Milchsäurebildung verhindert, diese Säuren also am Zustandekommen der Pasteur'schen Reaktion direkt beteiligt sind. Die Bernsteinsäure ist als C_4 -Dicarbonsäure sehr zellvertraut und wird auch in allen Zellen gut umgesetzt. Tsuchida und Hosoda (37) stellten in Versuchen an Hunden fest, dass diese Tiere bis zu 390 mg/kg Körpergewicht und Stunde umsetzen. Nach Ikeziri (43) wird auch der O_2 -Verbrauch von Knochenmark und noch mehr von Niere und Leber in den Versuchslösungen gesteigert und die Bildung von Brenztraubensäure erhöht. Sollte man nach der Fülle von Beispielen, wie und wo die Bernsteinsäure in Stoffwechselreaktionen des Organismus eingreift, annehmen, sie bliebe ausgerechnet auf den Mechanismus der Fettsäuresynthese ohne Einfluss?

Die Ergebnisse lassen eine ausserordentlich starke aktivitätsmässige Förderung erkennen. Die Gesamtaktivität zeigt eine Kurve, die bei 3 mg auf 195 % Fettsäuresynthese klettert und auch noch bei 5 mg Bernsteinsäure im Versuchsansatz 53 % Förderung im Vergleich zum Ausgangswert zeigt. Noch steiler ist die Kurve der spezifischen Aktivität, die schon ein Maximum bei 2 mg mit 215 % bringt. Da bei 5 mg Säurezusatz immer noch 80 % Synthesesteigerung gegeben sind, liegt die Frage nahe, warum nicht höhere Konzentrationen von Bernsteinsäure den Ansätzen zugefügt werden, um den weiteren Kurvenverlauf verfolgen zu können. Eine Konzentrationserhöhung schien unzweckmässig, da das pH-Optimum für die Fettsäuresynthese dann nicht mehr gehalten werden konnte und beispielsweise die pH-Werte bei 10mg um 5 lagen. Die einzelnen Gewichtszunahmen können keine erhöhte Fettsäuresynthese demonstrieren, sie liegen durchwegs unter dem Normalwert.

Bernsteinsäure

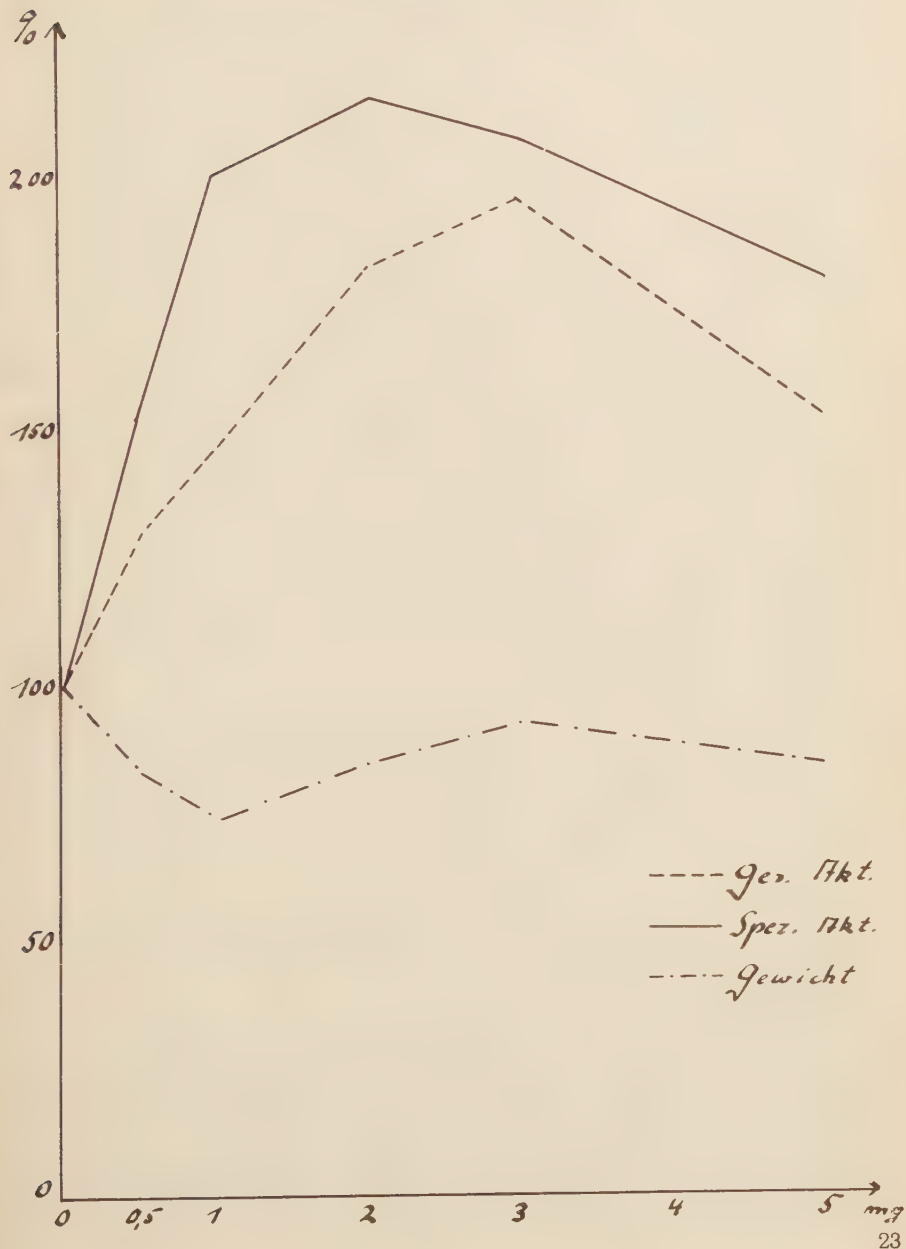
Versuchsnummern 927, 928, 938

Menge in mg pro
Versuchsansatz

0 0,5 1 2 3 5

Ges. Akt. Imp. /min	254	381	420	608	641	438
für 1 ccm Lös.	1520	1785	2100	2280	2435	2080
	3120	3720	4250	4950	5350	4680
Mittelwert	1631,3	1962	2256,6	2612,6	2802	2399,3
Prozente	100	151	166	240	254	173
	100	118	138	150	160	137
	100	119,5	136	158,8	171,5	150
Mittelwert	100	129,5	146,6	182,8	195,16	153,33
Spez. Akt. Imp. /min	16,2	27,2	30,6	44,6	43	30,7
für 1 mg Trocken-	152	203	294	256	233	260
substanz	260	417	573	524	530	468
Mittelwert	142,7	215,7	265,86	274,86	268,6	252,9
Prozente	100	168	189	276	266	189
	100	133	193	168	153	171
	100	157	220	201	204	180
Mittelwert	100	152,66	200,66	215	207,66	180
Gewicht in mg 5 ml	78,3	70	68,7	68	74,8	71,3
der eingedampft. 2 "	20	17,6	14,3	17,8	20,9	16
Lös. 2 "	24	17,9	14,8	18,9	20,2	20
Mittelwert	40,8	35,2	32,6	34,9	38,6	35,8
Prozente	100	89,2	88	87	95,5	91
	100	88	72	89	101	80
	100	74,5	61,6	78,5	84	83,5
Mittelwert	100	83,9	73,86	84,83	93,5	84,83

Der Einfluß von Bernsteinsäure auf die
Fettsäuresynthese in vitro



Glutarsäure

Die schwache Säure ist gut wasserlöslich und kommt im Rübensaft und im Waschwasser der rohen Schafwolle vor. Zusammen mit Bernsteinsäure bildet sie nach Weitzel (44) ein leicht verbrennbares Säurepaar. Glutarsäure kommt regelmäßig im menschlichen Harn vor, allerdings nur in geringen Mengen, denn nach 8-tägigen Belastungsversuchen am Menschen mit 100 mg pro kg Körpergewicht wurden nur 6 % Säure wieder ausgeschieden, Giftwirkungen waren dabei übrigens nicht zu beobachten. M. Rothstein (45) stellte weitere Versuche an über den Stoffwechsel mit Glutarsäure, die in C_1 und C_5 mit C_{14} markiert war. Er kam dabei zu folgendem Ergebnis: Mit Phlorrhizin behandelte Ratten atmeten in 24 Stunden 50 % des C^{14} als $C^{14}O_2$ aus, aber auch die im Harn ausgeschiedene Glucose enthielt etwa 2 % des C^{14} und zwar in den Positionen 3 und 4. Auch Beziehungen zum Eiweißstoffwechsel bestehen, wie dies von Rothstein und Miller (46) an Ratten gezeigt wurde. Nach Fütterung von L-Lysin kam es zu vermehrter Ausscheidung von Glutarsäure. Die mit C^{14} an C_6 markierte Aminosäure wurde in Pibecolinsäure umgebaut und es entstand nach weiterem Abbau über Aminosäure und Ketoacidpibinsäure die Glutarsäure. Die gute Verwertbarkeit der Glutarsäure wird darüberhinaus noch verständlicher, wenn man ihr Mitwirken im Krebszyklus betrachtet: Über die entsprechende α -Hydroxylsäure wird sie zu α -Ketoglutarsäure oxydiert. Als solche kann sie weiter durch oxydative Decarboxylierung zur Bernsteinsäure und noch weiter zum Motor des Zitronensäurezyklus, der Oxalessigsäure abgebaut werden. Rothstein und Miller gaben auf Grund ihrer Untersuchungen noch zwei weitere Abbaumöglichkeiten für Glutarsäure an:

- 1.) Oxydation zur β -Ketoglutarsäure. Durch β -Oxydation entsteht eine Acetandicarbonsäure, die dann durch Decarboxylierung Acetessigsäure liefert. Diese Verbindung kann dann aktiviert werden und zu Essigsäure abgebaut werden. Allerdings wurde auch spontaner Zerfall von Acetessigsäure in Aceton und CO_2 beobachtet. Die Reaktion ist in vivo reversibel, aber das Gleichgewicht scheint auf seiten Aceton und CO_2 .
- 2.) Decarboxylierung zu Buttersäure. Durch Kettenverlängerung ist ein Aufbau zu höheren Fettsäuren möglich, andererseits auch ein weiterer Abbau zu Essigsäure.

Für die Fettsäuresynthese dürften somit eine Steigerung des Einbaues von markiertem Acetat und erhöhte Gewichtszunahmen erwartet werden. Die Prozentzahlen der Gewichte liegen ähnlich denen bei Bernsteinsäure unter 100. Um so eindrucksvoller der Anstieg der Aktivitätskurven bis zum Maximum bei 3 mg Säurezusatz mit Werten von 208 % für die Gesamtaktivität und 243 % für die spezifische Aktivität. Selbst bei einer Konzentration von 5 mg findet noch eine

aktivitätsmässig messbare Steigerung der Fettsäuresynthese um 100 % statt. Höhere Glutarsäurekonzentrationen, etwa 10 - 20 mg brachten zwar einen stärkeren Abfall der Aktivitätskurven, gleichzeitig aber pro Ansatz auch ein Absinken des pH-Wertes unter 6 und wurden dabei tabellarisch und kurvenmässig nicht aufgeführt.

Glutarsäure

Versuchsnummern 927, 928, 938

Menge in mg pro Versuchsansatz	0	0,5	1	2	3	5
Ges. Akt. Imp./min	254	420	426	495	692	657
für 1 ccm Lös.	1520	1745	2000	1921	2672	2701
	3120	3230	3580	4320	5410	5360
Mittelwert	1631,3	1798,3	2002	2245,3	2924,6	1906
Prozente	100	166	168	196	274	258
	100	115	131,5	126,5	176	178
	100	103,5	115	138,5	174	172
Mittelwert	100	128,1	138,2	153,6	208	202,6
Spez. Akt. Imp./min	16,2	29,4	30,4	33,6	52	49,5
für 1 mg Trocken-	152	171	256	350	305	274
substanz	260	305	333	546	541	560
Mittelwert	142,7	168,5	206,5	309,86	299,3	294,5
Prozente	100	181	187,5	207	320	305
	100	112,5	168,5	230	201	180
	100	117	129	210	209	216
Mittelwert	100	136,8	161,6	212,3	243,3	233,6
Gewicht in mg der 5 ml	78,3	71,5	70	73,6	66,4	66,5
eingedampft. Lös. 2 "	20	20,4	15,6	11	17,5	19,7
2 "	24	21,2	21,5	15,8	20	19,1
Mittelwert	40,8	37,7	35,7	33,5	34,6	35,1
Prozente	100	91,3	89,5	94	84,5	85
	100	102	78	55	87,5	98,5
	100	88,5	89,5	66	83,3	79,5
Mittelwert	100	93,93	85,66	71,6	85,1	87,66

%

Abb. 4

250

Der Einfluß von Glutarsäure auf die Fettsäure-
synthese in vitro

200

150

100

50

0

0

0,5

1

2

3

4

5

mg

--- Ges. Fkt.
— Spez. Fkt.
- - - Gewicht

Adipinsäure

Die schwache Säure wurde im Rübensaft nachgewiesen, auch im Rizinusöl, vor allem aber in den cyclohexanreichen russischen Erdölen. Neuerdings findet sie auch technische Verwendung z.B. als Ersatz der Weinsäure in der Backpulver- und Limonadenindustrie. Gewisse Ester können als Gelatinierungsmittel benutzt werden. Besonders gebraucht wird sie zur Herstellung von Nylonseide (Polyamid, das synthetisch durch Zusammenschmelzen von Hexamethyldiamin und Adipinsäure erhalten wird.) Bernhard und Andreae (21) beschrieben die Adipinsäure als der Bernsteinsäure nahestehend in ihrem Verhalten im Stoffwechsel und erwähnen auch, dass sie im Organismus in beträchtlicher Menge abgebaut wird. Andere Autoren kommen offenbar nicht unbedingt zu dem gleichen Schluss. Lang und Bartsch (22) fütterten 33 Wochen lang Ratten mit täglichen Adipinsäuredosen bis zu 40 mg, die auch ohne nachweisbare Schäden vertragen wurden. Der Umfang der Adipinsäureausscheidung erwies sich als individuell stark verschieden, es bestanden jedoch keine Unterschiede zwischen an Adipinsäure gewöhnten und ungewöhnten Tieren. Der Organismus erlangt nicht die Fähigkeit grössere Mengen dieser Säure umzusetzen. Auch Weitzel (44) fand durch Adipinsäuregaben an Menschen die Ausscheidung im Harn erhöht und stellte fest: Zwischen Glutar- und Adipinsäure besteht ein Toleranzsprung, d.h. mit der Adipinsäure beginnt die Gruppe der schwer verbrennbaren Dicarbonsäuren. Auf die Mittelstellung von Adipinsäure und Pimelinsäure ist in der Einleitung bereits hingewiesen. Interessant war nur die Frage, wie würde sich diese Mittelstellung bei der Einwirkung auf die Fettsäuresynthese bemerkbar machen. Die Gesamtaktivität ist bei 0,5 mg Adipinsäurezusatz zunächst leicht erhöht auf 112 % und sinkt dann ungewöhnlich stark unter den Kontrollwert bis auf etwa 8 %. Die spezifische Aktivität findet ihr Maximum erst bei 1 mg mit 129,3 %, um dann umso abrupter abzufallen bis auf einen Wert von 12 %, was schon kaum mehr als Fettsynthese angesehen werden kann. Die Gewichtskurve zeigt bei 2 mg Zusatz einen ungeahnten Sprung auf 11 % Förderung, während die Anfangs- und auch die folgenden Werte unter normal liegen. Bemerkenswert, dass diese Kurve gerade bei der Konzentration steigt, bei der die Aktivitätskurven am stärksten fallen.

Adipinsäure

Versuchsnummern 941, 942, 943

Menge in mg pro

Versuchsansatz	0	0,5	1	2	3	5
Ges. Akt. Imp./min	3970	4700	3400	3680	1960	334
für 1 ccm Lös.	3050	3340	3180	1900	1370	274
	2550	1820	2545	2040	1415	158
Mittelwert	3190	3620	3041,6	2540	1581,6	255,3
Prozente	100	118	85,8	93	49,4	8,4
	100	109	104	62,3	45	9
	100	110,2	99,8	79,9	55,4	6,2
Mittelwert	100	112,4	96,53	78,4	49,93	7,86
Spez. Akt. Imp./min	350	470	433	270	179	43,3
für 1 mg Trocken-	272	301	324	150	133	29,2
substanz	205	265	297	165	126	18,7
Mittelwert	275,6	345,3	351,3	195	146	30,4
Prozente	100	134	124	72	51	12,4
	100	110	119	55	49	16,5
	100	129	145	80,5	61,5	9,15
Mittelwert	100	124,3	129,3	69,16	53,83	12,63
Gewicht in mg der	22,6	20	15,7	27,3	21,8	15,4
eingedampft. Lös.	24,8	21,2	17,1	24,7	22,5	16,9
(2 ml)	22,4	22,1	19,6	25,3	20,7	18,8
Mittelwert	23,38	21,1	17,5	25,8	21,7	17,3
Prozente	100	88,5	69,5	120,5	91,5	67
	100	98,5	87,5	113	92,5	84
	100	85,5	69	99,5	90,7	68,2
Mittelwert	100	90,83	75,3	111	91,56	73,06

Abb. 5
Der Einfluß von Adipinsäure auf die
Fettsäuresynthese in vitro



--- Ges. Fkt.
— Spez. Fkt.
- - - Gewicht

Pimelinsäure

Diese Säure nimmt wie ihre Vorgängerin in der homologen Reihe der Dicarbonsäuren eine Mittelstellung ein. Sie ist durch Oxydation von Rizinusöl darstellbar. Auch über Salicylsäure kann man durch Reduktion zur Pimelinsäure gelangen.

Pimelinsäure kommt regelmässig im Harn von Pflanzenfressern vor und ist für den tierischen Organismus schwer verwertbar. Verkade und v.d.Lee (47) fanden nach Verfütterung der Dicarbonsäure Triundecylinsäure neben Undecandicarbonsäure und Azelain- auch Pimelinsäure vermehrt im Harn, was nach Meinung der Verfasser bedeutet, dass der im Stoffwechsel umgesetzte Anteil der ungeradzahligen Dicarbonsäuren durch β -Oxydation abgebaut wird. Diese in der Einleitung schon erwähnte Behauptung wird noch eingehender zu diskutieren sein. Nach Klenk (48) stellt die Pimelinsäure ein Spaltprodukt der D-7, 10, 13, 16, 19 -Dokosapentaensäure und der D-7, 10, 13, 16 -Tetraensäure dar. Die erstere konnte in Phosphatiden der Rinderleber, die zweite in den Gehirnphosphatiden nachgewiesen werden. Für den Einfluss auf die Synthese von Fettsäuren durfte man bei der Pimelinsäure ähnliche Ergebnisse erwarten wie bei der ihr stoffwechselmässig nahestehenden Adipinsäure.

Bis zur Pimelinsäurekonzentration von 1 mg ist ein Anstieg der Aktivitätskurven festzustellen, bei der Gesamtaktivität auf 109 % bei der spezifischen Aktivität auf 126,6 %. Die Werte für die Gesamtaktivität bewegen sich dann über 90 % und 80 auf 60 %, bezogen auf den Ausgangswert und lassen eine Hemmung der Synthese deutlich werden. Dieser Kurve schliesst sich im Verlauf die der spezifischen Aktivitäten im wesentlichen an. Fast spiegelbildlich dazu hat die Gewichtskurve mit 86 % ein Minimum bei 1 mg und ein Maximum von 112 % bei 3 mg. Die Hemmung der Fettsäuresynthese ist hier also nicht so ausgeprägt wie bei der Adipinsäure.

Pimelinsäure

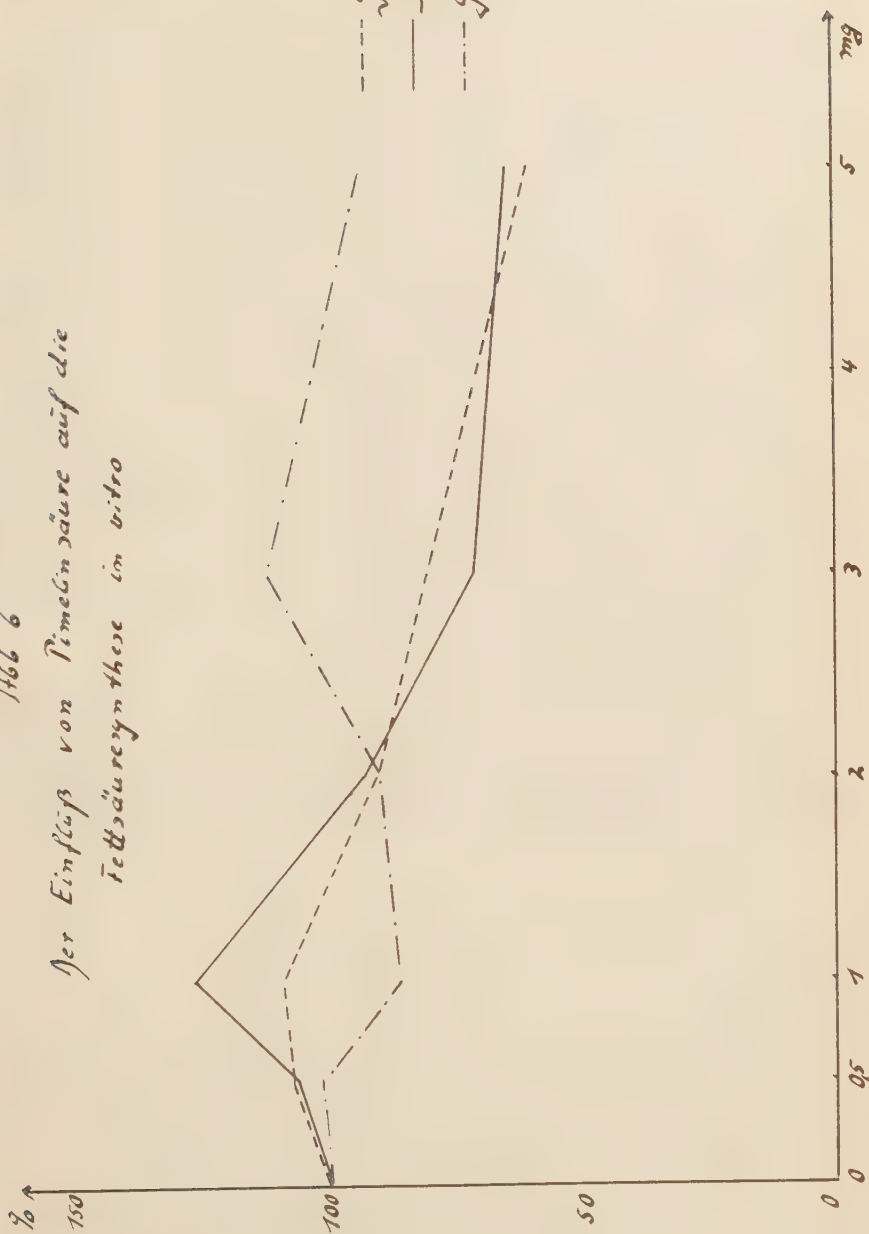
Versuchsnummern 941, 942, 943

Menge in mg pro

Versuchsansatz	0	0,5	1	2	3	5
Ges. Akt. Imp./min	3970	4420	4630	3780	3775	2850
für 1 ccm Lös.	3050	3250	3150	2410	2260	1740
	2550	2655	2728	1940	1810	1334
Mittelwert	3190	3441,6	3502,6	2710	2615	1974,6
Prozente	100	111	117	95,3	95,2	71,9
	100	107	103	79	74	57
	100	104	107	96	71	52,1
Mittelwert	100	107,3	109	90,1	80,66	60,3
Spez. Akt. Imp./min	350	350	467	346	260	259
für 1 mg Trocken-	272	285	312	223	174	166
substanz	205	234	269	203	157	122
Mittelwert	275,66	289,6	349,3	257,3	197	182,3
Prozente	100	100	134	99	74,2	74
	100	105	115	82	64	61
	100	114	131	99	76,5	59
Mittelwert	100	106,3	126,6	93,3	71,56	64,6
Gewicht in mg	22,6	25,2	19,8	21,8	28,9	22
der eingedampft.	22,4	22,8	20,2	21,7	26	20,9
Lös. (2 ml)	24,8	22,7	20,3	19,1	23	21,8
Mittelwert	23,3	23,6	20,1	20,8	25,9	21,6
Prozente	100	111	87,5	96,5	128	97,5
	100	102	90	97	116	93,5
	100	91,5	82	77	92,7	88
Mittelwert	100	101,5	86,5	90,16	112,23	93

Abb 6

Der Einfluß von Pimelinsäure auf die
Fettsäuresynthese *in vitro*



--- Gen. Akt.
— Spez. Akt.
... Gewicht

Korksäure

Diese äusserst schwache Säure wird bei der Einwirkung von Salicylsäure auf Kork gewonnen, sie stellt einen Bestandteil des Rizinusöles dar und ist synthetisch durch Elektrolyse des Esterkaliumsalzes der Glutarsäure zu erhalten. Die Korksäure gehört mit 8 C-Atomen zu den mittelkettigen Dicarbonsäuren und wird als solche vom Organismus nur schwer verbrannt. Wie Verdade und Mitarbeiter (49) durch Verfütterung von $C_6 - C_{11}$ Dicarbonsäuren an Hunden und in Selbstversuchen darlegten, werden etwa 45 % der verfütterten Mengen jeweils im Harn unverändert wieder ausgeschieden, dabei ist es nicht von Bedeutung, ob die Substanzen peroral oder parenteral verabreicht werden (50). Korksäure kann im intermediären Stoffwechsel durch α -Oxydation aus der homologen Fettsäure, der Caprylsäure, entstehen oder durch β -Oxydation aus längerkettigen Dicarbonsäuren. Dass die dabei entstehenden Mengen gering sind, konnte Bernhard (53) dadurch beweisen, dass er Deuteriumhaltige mittelkettige Dicarbonsäuren, in diesem Falle Korksäure, verfütterte und dann die Deuteriumkonzentration im Urin bestimmte. Es stellte sich dabei nämlich heraus, dass die im Urin erscheinenden Säuren, hier Korksäure, den gleichen Deuteriumgehalt aufwiesen, wie die verfütterten, also keine wesentliche Verdünnung mit nicht markierten, im Intermediärstoffwechsel gebildeten Dicarbonsäuren eintrat.

Da die Korksäure offenbar sehr reaktionsträge ist, kann man kaum annehmen, dass sie Einfluss auf die Vorgänge bei der Synthese von Fettsäuren nimmt, es sei denn, sie wird verestert und in Glyceride eingebaut.

Gesamt- und spezifische Aktivität verlaufen in ihren Kurven einträchtig nebeneinander weit unter dem Normalwert und zeigen bei einer Korksäurekonzentration von 5 mg mit 11 bzw. 12 % eine signifikante Verminderung der Fettsäuresynthese. Die einzelnen Gewichtszunahmen unterscheiden sich dabei nicht nennenswert von der Norm.

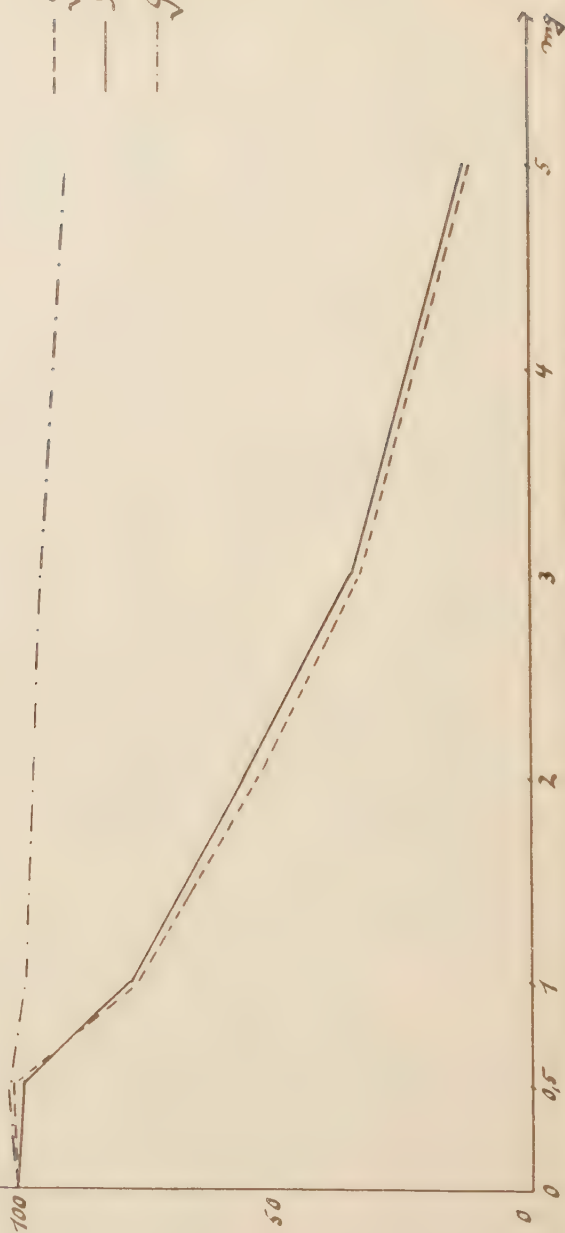
Korksäure

Versuchsnummern 944, 945, 946

Menge in mg pro

Versuchsansatz	0	0,5	1	2	3	5
Ges. Akt. Imo./min	2525	2538	1820	1305	822	320
für 1 ccm Lös.	3960	3958	3202	2260	1685	740
	2830	2890	2150	1400	680	107
Mittelwert	3105	3128,6	2390,6	1655	1062,3	389
Prozente	100	100	72	51,7	32,5	12,6
	100	100	81	57,1	42,5	18,6
	100	102	76	49,5	24	3,8
Mittelwert	100	100,6	76,3	52,76	33	11,6
Spez. Akt. Imp./min	187	218	150	123	70	26,5
für 1 mg Trocken-	370	337	292	173	139	67,8
substanz	268	253	196	147	75,5	12,9
Mittelwert	275	269,3	212,6	147,6	94,83	35,73
Prozente	100	112	80	66	37,4	14,2
	100	91	79	46,6	36,2	18,3
	100	94,5	73	55	29	4,8
Mittelwert	100	99,16	77,3	55,86	34,2	12,43
Gewicht in mg	27	23,2	24,2	21,2	23,5	24,2
der eingedampft.	21,4	23,5	22	26,2	24,2	21,9
Lös. (2 ml)	21,2	22,8	22	19,1	18	16,5
Mittelwert	23,2	23,2	22,7	22,2	21,9	20,9
Prozente	100	86	89,5	78,5	87	89,5
	100	110	103	122	113	102,5
	100	108	104	90	85	78
Mittelwert	100	101,3	98,83	96,83	95	90

1766. 7
 Der Einfluß von Korksäure auf die
 Fettsäuresynthese in vitro



Azelainsäure

Die Azelainsäure ist aus Rizinusöl zu gewinnen. Die schwache Säure spielt in der Nahrung, wie alle mittelkettigen Dicarbonsäuren keine Rolle und ist im Organismus ebenfalls schwer zu verbrennen und wird wie die Korksäure nach Verfütterung im Ham fast unverändert wieder ausgeschieden. Dagegen ist der Organismus in der Lage, 9,10-Dioxystearinsäure und 9,10-Diketostearinsäure zu Azelainsäure zu oxydieren (51). Von Stevens und Chaikoff durchgeführte Untersuchungen mit Stearol- und Behenolsäure (Fettsäuren mit Dreifach-Bindung zwischen C_{13} und C_{14}) zeigten, dass auch aus diesen Verbindungen durch Spaltung an der Dreifach-Bindung Azelainsäure entstehen kann (52). Auch diese Säure wird bei der β -Oxydation höherer Dicarbonsäuren als Zwischenprodukt frei, wie Verkade und Mitarbeiter bei Verfütterung von Undecandicarbonsäure an Hunden feststellen konnten. Bei der Betrachtung der Ergebnisse drängt sich der Vergleich mit der Korksäure auf. Die Kurvenbilder gleichen sich fast völlig. Nur anfangs liegen Gesamt- und spezifische Aktivität mit 3 und 9 % über dem Normalwert, was aber durchaus noch in den Bereich der physiologischen Schwankungsbreite zu rechnen ist. Auch hier verläuft die Gewichtskurve beharrlich knapp unter 100 % und zeigt mit 81 % bei der Konzentration 5 mg nur eine leichte Hemmung, die spezifische Aktivität sinkt zwar nicht so plötzlich ab wie bei der Korksäure, aber bei 5 mg ist immerhin eine aktivitätsmässige Hemmung der Fettsäuresynthese von 90 % festzustellen.

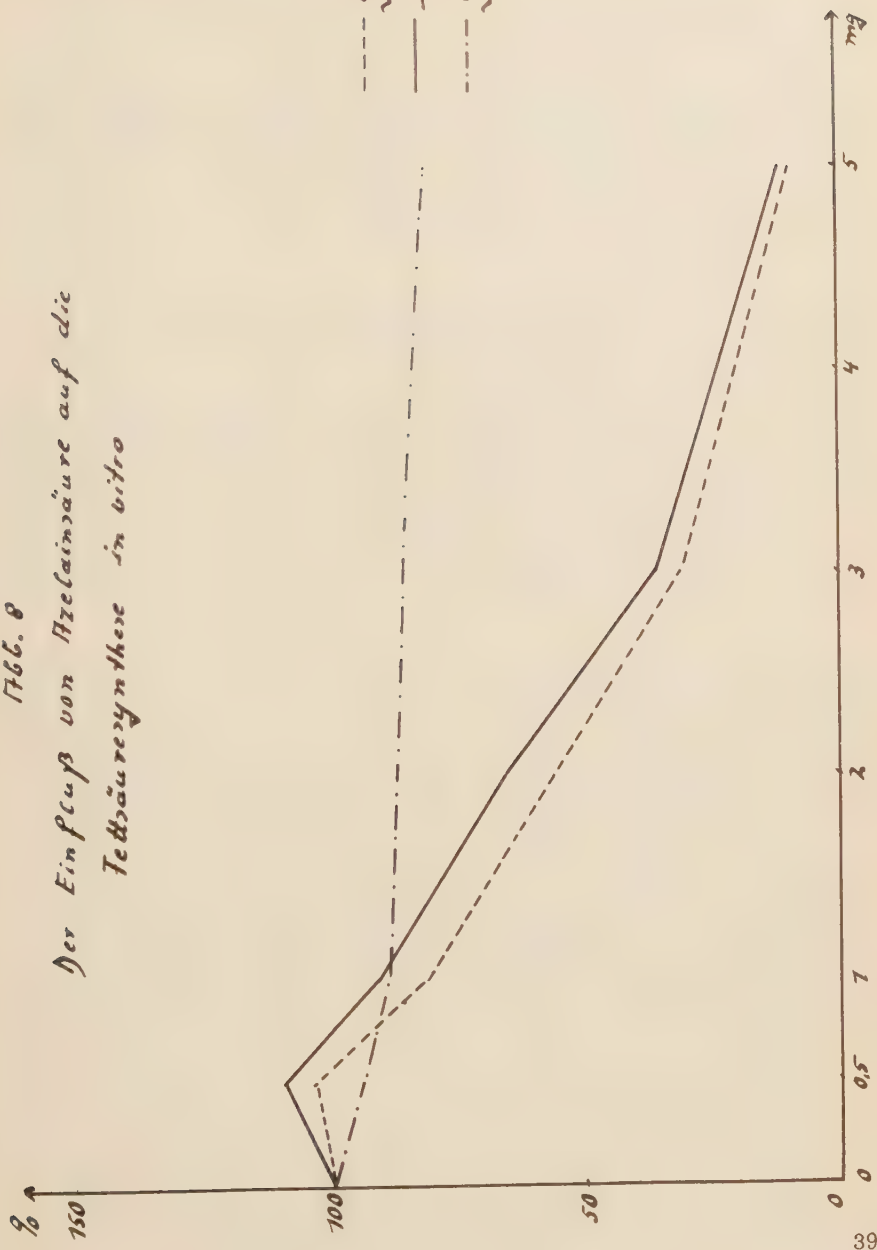
Azelainsäure

Versuchsnummern 944, 945, 946

Menge in mg pro Versuchsansatz	0	0,5	1	2	3	5
Ges. Akt. Imp./min	2525	2573	2025	1382	792	250
für 1 ccm Lös.	3960	4102	3550	2477	1420	382
	3830	2990	2110	1470	732	215
Mittelwert	3105	3221,6	2561,6	1776,3	981,3	282,3
Prozente	100	102	80,2	54,8	31,5	9,9
	100	103,7	89,5	62,3	35,7	9,6
	100	105	74,8	52	25,8	7,6
Mittelwert	100	103,56	81,5	56,36	31	9,03
Spez. Akt. Imp./min	187	198	169	101	65	25,5
für 1 mg Trocken-	370	427	374	300	158	40,2
substanz	268	287	223	169	80,5	24,2
Mittelwert	275	304	255,3	190	101,16	29,96
Prozente	100	106	90	54	35	13,6
	100	115	101	81	43	10,8
	100	107	82	63	30	9,5
Mittelwert	100	109,3	91	66	36	11,3
Gewicht in mg	27	26	24	27,4	24,4	19,6
der eingedampft.	21,4	19,2	19	16,5	18	19
Lös. (2 ml)	21,2	20,8	18,9	17,4	18,2	17,8
Mittelwert	23,2	22	20,6	20,4	20,2	18,8
Prozente	100	96,2	89	103	90,5	72,5
	100	89,5	89	77	84	89
	100	98	88,8	82	86	84
Mittelwert	100	94,56	88,93	87,3	86,83	81,83

Abb. 8

Der Einfluß von Azelainsäure auf die
Fettsäuresynthese *in vitro*



Sebazinsäure

Auch diese schwache Säure ist aus Rizinusöl zu gewinnen und im tierischen, sowie menschlichen Körper schwer angreifbar und wird daher nach Verabreichung nahezu unverändert im Harn wieder ausgeschieden.

Ihre Wirkung auf die Bildung von Fettsäuren äussert sich bei den Gewichtszunahmen wie folgt: Anfangsförderung von 7 %, die nicht stark bewertet zu werden braucht, sodann erst geringer, dann etwas stärker werdende Hemmung bis auf 82 % des Nullwertes. Die Kurven der Aktivitäten verlaufen von Anfang an unter 100 % und zeigen bei 5 mg Säure im Ansatz mit 14 und 21 % wieder kaum nennenswerte Synthese.

Die letzten beiden mittelkettigen Säuren Decan 1 - 10 und Undecandicarbonsäure, traten bislang nicht sonderlich in Erscheinung, denn in der Literatur finden sie kaum Erwähnung.

Die Decan 1 - 10 Säure bietet die stärkste Synthesehemmung von allen bisher untersuchten Säuren. Nachdem schon die Kurve der Gewichte ein Minimum von 56 % bei 5 mg erreicht, ist der Kurvenabfall bei den Aktivitäten sehr eindrucksvoll. Dass bei 5 mg nur mehr 7,5 % der Gesamtaktivität und 13,6 % der spezifischen Aktivität gegenüber 100 % der Normwerte vorhanden sind, ist eigentlich noch nicht so eindrucksvoll als die entsprechenden Werte von 19 und 23 % bei nur 2 mg Säure im Ansatz.

Die Undecandicarbonsäure wies ebenfalls eine starke gewichts- und aktivitätsmässige messbare Hemmung auf. Die gewichtsmässige Hemmung fällt mit 46 % des Ausgangswertes noch höher aus, als bei Decan 1 - 10 Dicarbonsäure, aber die Aktivitätskurven verlaufen schon etwas höher und erreichen mit Minima von 13,7 für die Gesamt- und 29,7 % für die spezifische Aktivität nicht mehr die kaum noch als Ausdruck von Fettsäuresynthese geltenden Prozentzahlen der zuvor untersuchten Dicarbonsäuren. Deutet sich hier schon ein anderes Verhalten langkettiger Dicarbonsäuren im Organismus auch gegenüber der Synthese von Fettsäuren an? Da die Undecandicarbonsäure das letzte Glied der schwer verbrennbaren Säuren darstellt, könnte wohl angenommen werden, dass Gewichts- und Aktivitätskurven bei den nächsthöheren Gliedern der homologen Reihe wieder anders verlaufen.

Sebazinsäure

Versuchsnummern 950, 952, 953

Menge in mg pro Versuchsansatz	0	0,5	1	2	3	5
Ges. Akt. Imp./min	4795	4720	3320	3050	2122	815
für 1 ccm Lös.	2310	2060	1660	1320	672	264
	3300	3230	2440	2170	1390	495
Mittelwert	3468,3	3336,6	2473,3	2180	1394,6	524,6
Prozente	100	98,6	69,2	63,6	44,2	17
	100	89,2	71,8	57	29,1	11,4
	100	98	74	65,8	42	15
Mittelwert	100	95,26	71,6	62,13	38,4	14,4
Spez. Akt. Imp./min	512	476	388	325	259	91,5
für 1 mg Trocken-	267	214	192	157	85,3	29,4
substanz	330	305	233	238	160	103,4
Mittelwert	369,6	331,6	271	240	168,1	74,76
Prozente	100	93	75,5	63,5	50,5	17,9
	100	80	71	58,6	32,5	11
	100	91	70,5	72	48,5	36
Mittelwert	100	8	72,3	64,7	43,3	21,83
Gewicht in mg	18,7	19,8	17,1	18,8	16,4	17,8
der eingedampft.	17,3	19,2	17,3	16,8	15,7	18
Lös. (2 ml)	20	21	21	18,2	17,4	9,6
Mittelwert	18,7	20	18,5	17,9	16,5	15,1
Prozente	100	106	91,5	100,5	87,5	95
	100	111	100	97	91	104
	100	105	105	91	87	48
Mittelwert	100	107,3	98,83	96,16	88,5	82,3

Decan 1 - 10 Dicarbonsäure

Versuchsnummern 947, 94 , 949

Menge in mg pro Versuchsansatz	0	0,5	1	2	3	5
Ges. Akt. Imp. /min	2903	2022	1397	561	359	216
für 1 ccm Lös.	3340	2370	1670	688	482	297
	2920	1980	1330	492	308	186
Mittelwert	3021	2124	1465,6	580,3	383	233
Prozente	100	69,7	48	19,4	12,4	7,5
	100	71	50	20,6	14,4	8,9
	100	68	45,6	16,8	10,5	6,38
Mittelwert	100	69,56	47,86	18,93	12,43	7,59
Spez. Akt. Imp. /min	235	194	134	58,9	41,6	36
für 1 mg Trocken-	281	217	168	71,2	42,1	39,5
substanz	252	216	139	52	38,1	28,2
Mittelwert	256	209	147	60,7	40,6	34,56
Prozente	100	82,5	57	25	17,7	15,6
	100	72,5	59,5	25,3	15	14
	100	86	55	20,6	15,1	11,3
Mittelwert	100	80,3	57,16	23,6	15,9	13,6
Gewicht in mg	24,7	20,8	20,8	19,1	17,2	12
der eingedampft.	23,8	21,8	19,9	19,3	22,3	15
Lös. (2 ml)	23,1	18,3	19,2	18,9	16,2	13,2
Mittelwert	23,9	20,3	19,9	19,1	18,7	13,4
Prozente	100	84	84	77,5	69,6	48,6
	100	91,5	83,5	81	95,7	63
	100	79,2	82,6	82	70	57
Mittelwert	100	84,9	83,36	80,16	78,4	56,2

Uncandicarbonsäure

Versuchsnummern 947, 948, 953

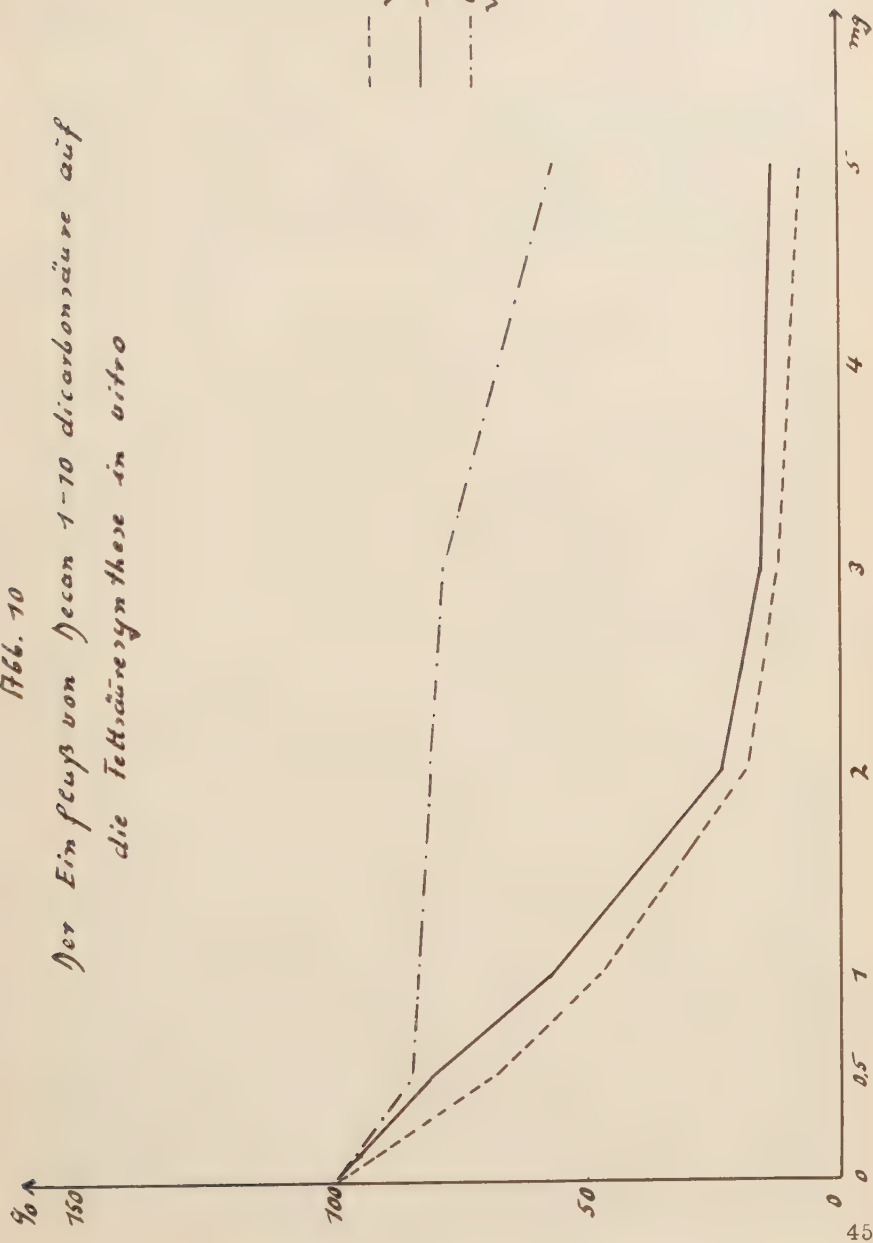
Menge in mg pro Versuchsansatz	0	0,5	1	2	3	5
Ges. Akt. Imp./min	2903	2360	1748	975	683	540
für 1 ccm Lös.	3340	2560	1840	1070	780	580
	3300	2570	2120	1240	335	176
Mittelwert	3181	2496,6	1902,6	1095	599,3	432
Prozente	100	80,2	60,1	33,5	23,5	18,6
	100	77	55,1	32	23,4	17,4
	100	78	64	37,6	10,2	5,3
Mittelwert	100	78,4	59,73	34,36	19,03	13,76
Spez. Akt. Imp./min	235	223	217	134	82,2	72
für 1 mg Trocken-	281	270	250	151	94,7	79,5
substanz	330	318	260	208	172	100
Mittelwert	282	270,3	242,3	164,3	116,3	83,8
Prozente	100	95	92,5	57	35	30,6
	100	96	89	53,5	33,2	28,3
	100	96,5	79	63	52	30,2
Mittelwert	100	95,83	86,8	57,8	40,06	29,7
Gewicht in mg der eingedampft.	24,7	21,2	16,1	14,6	16,6	15
Lös. (2 ml)	23,8	19,1	14,7	14,2	16,5	14,6
	20	16,2	16,2	11,9	3,9	3,5
Mittelwert	22,8	18,8	15,7	13,6	12,3	11
Prozente	100	86	65,2	59	67,2	60,7
	100	80	62	59,5	69,5	61,5
	100	81	81,5	59,5	19,5	17,5
Mittelwert	100	82,3	69,56	59,3	52,06	46,56

Der Einfluss von Sebazinsäure auf die
Fettsäuresynthese in vitro



Abb. 10

Der Einfluß von Decan 1-10 dicarbonensäure auf
die Fettsäuresynthese in vitro



Der Einfluß von Undecandicarbonsäure auf die
Fettsäuresynthese *in vitro*



DISKUSSION

Während bei in vivo-Versuchen die individuelle Stoffwechsellage der Tiere, Resorbierbarkeit der zugeführten Substanzen und Stoffwechselumgehungsmöglichkeiten bei Fermentblöcken zu berücksichtigen sind, hat man es bei in vitro-Versuchen nur mit den Umsetzungen im untersuchten Organ zu tun.

Von den Untersuchungsergebnissen, die mit isoliertem, toten Organmaterial gewonnen wurden, kann aber nur bedingt auf die Reaktionsabläufe im lebenden Organismus geschlossen werden. Bei den vorliegenden Versuchen zur Fettsäuresynthese in vitro, die an Taubenleberhomogenaten vorgenommen wurden, erhält man zwar über die Wirkungen von Dicarbonsäuren auf die synthetischen Prozesse in der Leber Auskunft, nicht aber über Transport oder Verbrennung ein- bis zwei-basischer Säuren.

Die ermittelten Werte bei den Gewichtsbestimmungen haben gegenüber den gemessenen Aktivitäten nur begrenzten Aussagewert, da die Zunahmen auch bei den Normalwerten nur sehr gering sind.

Kommt es nun zu einer aktivitätsmäßig festgestellten Synthesehemmung, so kann das verschiedene Ursachen haben. Es kann die Synthese tatsächlich gehemmt sein und es wird damit auch weniger aktives Acetat eingebaut, oder, was beim isolierten Organ eigentlich nicht so ins Gewicht fällt wie bei den Versuchen in vivo, durch vermehrtes Angebot an inaktivem Acetat aus dem Intermediärstoffwechsel wird, bei vielleicht sogar gesteigerter Synthese, weniger markiertes Acetat zum Aufbau verwendet. Interessant ist dabei die Ansicht von Chaikoff und Mitarbeiter (54), die annehmen, dass die Acetessigsäure in der Leber auf 2 verschiedenen Wegen entsteht:

- 1) Durch zufällige Rekondensation von Stücken aus dem Pool der C_2 -Bruchstücke und
- 2) durch Kondensation eines gerade eben durch Oxydation einer ein- oder zwei-basischen Säure entstehenden Bruchstückes mit einem C_2 -Bruchstück wieder aus dem Pool.

Wird die zugesetzte Substanz als Ganzes an Glycerin angelagert, kann es ebenfalls zu einer Verdrängung des isotopen Acetats kommen und es entsteht das Bild einer unechten Hemmung. Einfacher sind Folgerungen zu ziehen, wenn in den Fetten eine gesteigerte Aktivität vorliegt, denn dann ist die Ursache auf jeden Fall ein verstärkter Einbau von markierten C_2 -Bruchstücken. Dieser Einbau ist möglich, entweder durch Synthese neuer ganzer Fettsäureketten oder durch Verlängerung bereits gebildeter Fettsäuren durch C^{14} -Acetat. Wie sind nun die Wirkungen der kurz- und mittelkettigen Dicarbonsäuren bei der Fettsäuresynthese zu deuten?

Oxalsäure fördert offensichtlich den Einbau von markiertem Acetat in die Fett-

säure. Bei der kleinsten Konzentration von 0,5 mg ist diese Tatsache am deutlichsten. Mit zunehmender Konzentration geht die Kurve der spezifischen Aktivität zögernd herunter auf 100 %. Zur gleichen Zeit steigt aber die Kurve der Gewichtszunahmen, so dass sich der Schluss aufdrängt, mit abnehmendem Einbau von radioaktivem Acetat werden andere C_2 -Bruchstücke verwendet. Da aber die Messwerte für die Gewichte unter 100 % bleiben, kann von einem vermehrten Einbau nicht markierter Bruchstücke auch nicht gesprochen werden. Wo und wie die Oxalsäure in den Fettstoffwechsel eingreift, ist dabei schwer zu sagen, denn in der Literatur finden sich keine Angaben über das biochemische Verhalten dieser Säure. Sie muss aber eine Rolle spielen, denn neben ihrer beschriebenen guten Verbrennbarkeit (26) entsteht sie im Organismus beispielsweise auch nach Verabreichung von Ascorbinsäure, wie in Versuchen an Meerschweinchen (55) und am Menschen (56) festgestellt wurde. Ferner entsteht sie laufend im Intermediärstoffwechsel, wohl aus C_2 -Bruchstücken, nach Müller (57) vermutlich aus den Vorstufen Glykolsäure und Glyoxylsäure.

Arder und Mitarbeiter (58) stellten bei Versuchen mit Personen, denen peroral Na- oder Ca-oxalat verabreicht worden war, fest, dass die Oxalsäureausscheidung bei Personen mit und ohne primäre Oxalurie zeitlich und mengenmässig in gleichem Ausmass stieg und hieraus zu schliessen ist, dass die Hyperoxalurie nicht auf einer vermehrten Oxalsäureesorption im Darmkanal und nicht auf einer verringerten Oxalrückresorption im Nierentubulus beruht. Es wird von diesen Autoren eine Störung im Glykokollabbau diskutiert, zumal nach Verabreichung einer eiweissarmen Kost oder nach Na-Benzolat die Ausscheidungen zurückgingen. Die Störung bei der primären Hyperoxalurie beruht demnach auf dem Unvermögen des Körpers, die aus dem Glykokoll entstehende Glyoxalsäure weiter zu CO_2 und Formiat zu oxydieren, wobei die sich anhäufende Glyoxylsäure zu Oxalsäure weiteroxydiert wird. Diese Vermutungen haben sich bestätigt durch den Versuch von S. Silbergeld (59), der nach subcutaner Injektion von Na-Glykolat oder Glykolsäure an Ratten zwar keinerlei Nierenschaden, aber einen 10-mal höheren Oxalatgehalt in der Niere fand.

Diese Zusammenhänge zwischen Hyperoxalurie, Glykol- und Glyoxalsäure sind nicht unwichtig, wenn man bedenkt, dass Mikroorganismen in der Lage sind, im sog. Glyoxalatzyklus (58) Isocitrat in Succinat und Glyoxalat zu spalten und dass weiterhin Glyoxalat mit aktivierter Essigsäure zu Malat, einem Zwischenprodukt im Fettsäurestoffwechsel, kondensiert werden kann.

Mikroorganismen sind also in der Lage, durch oder mit Glyoxalsäure beispielsweise Fettsäureketten aufzubauen. Mikroorganismen des menschlichen Darmes können andererseits Oxalsäure abbauen (28). Könnten sie nicht auch Oxalsäure zu Glyoxalsäure reduzieren, sie so der Weiterverwertung zugänglich machen und wäre somit nicht auf Umwegen doch eine Beteiligung der Oxalsäure an der

Fettsäuresynthese auch bei höheren Organismen gegeben? Mit dieser Überlegung kann man die Syntheseförderung im Leberhomogenat trotzdem nicht erklären, denn Darmbakterien können dafür nicht verantwortlich gemacht werden.

Der Malonsäure schreiben Tietz und Popjak (35) wie bereits erwähnt, Fettsäuresynthesen stimulierende Wirkung zu. Auch Wick und Mitarbeiter (61) konnten nach Versuchen mit eviscerierten nephrektomierten Kaninchen, denen Infusionen von 1-C^{14} -Acetat über mehrere Stunden mit und ohne Malonat verabfolgt worden war, keine Hemmung der Acetatoxydation (C^{14}O_2 Ausatmung) beobachten.

Auch in den Versuchen zur Fettsynthese zeigt sich zunächst eine Förderung der spezifischen Aktivität, was auch durchaus zu erwarten war. Von der Konzentration 2 mg an sinkt die Aktivität sehr stark, das markierte Acetat wird weit aus weniger eingebaut. Dieser Befund widerspricht auf jeden Fall den an Leberschnitten von Ratten und Menschen erzielten Ergebnissen von Kline und de Luca (62). Wonach die Malonsäure zwar den Einbau von C^{14} -Acetat in Cholesterin, nicht aber in die beiden anderen Lipoidfraktionen Phosphatide und Fettsäuren inhibiert. Auf Grund des auffälligen Ansteigens der Gewichtskurve darf angenommen werden, dass bei der Konzentration von 2 mg noch keine Synthesehemmung eintritt. Wahrscheinlich wird die Malonsäure jetzt selbst vermehrt in den synthetisierenden Prozess einbezogen und somit die Carboxylierung vom (akt.) Acetyl-CoA zu Malonyl CoA übersprungen. Ganguly (63) gelang es zu zeigen, dass bei allen untersuchten Geweben die Geschwindigkeit der Synthese langgliedriger Fettsäuren aus markiertem Malonyl-CoA wesentlich grösser ist als aus markiertem Acetyl-CoA.

Während bei 2 mg die langsamere Synthese über Acetyl-CoA durch die schnellere Reaktion mit Malonyl-CoA ersetzt scheint, muss wohl angesichts des deutlichen Abfalls aller Kurven bei 3 und 5 mg an eine weitere Eigenschaft der Malonsäure gedacht werden. Chiosa und Mitarbeiter (64) beobachteten nach intraperitonealer Injektion von 0,5 g/kg Körpergewicht Na-Malonat an Ratten, eine Abnahme des O_2 Verbrauchs. Kann Malonsäure die Verbrennung im Zitronensäurezyklus (CSZ) hemmen? Die Frage muss bejaht werden, denn nach Quastel und Wooldridge (65) wirkt Malonat spezifisch hemmend auf die Succinodehydrogase. Zu dieser Erkenntnis gelangte Forssmann (66) durch seinen Malonsäureversuch in vivo ebenfalls. In grösseren Mengen wirkte die Malonsäure bei Verfütterung toxisch, es kam zu einer Steigerung der Bernsteinsäurekonzentration im Blut, weil der weitere Abbau im Gewebe stockte und als Folge zu einem erhöhten Bernsteinsäure-Gehalt des Harnes.

Die toxische Wirkung soll nach anderen Autoren (61) weniger auf die kompetitive Hemmung der Bernsteinsäure als vielmehr auf die Metallionenbindung zurückzu

führen sein, wobei Hemmung der Blutgerinnung einen Hinweis liefere. Aber diese Annahme bedarf wohl noch der Klärung. Zur Fettsäuresynthesehemmung bei höheren Malatkonzentrationen kommt es demnach durch die Hemmung der Verbrennungsvorgänge im CSZ und den dadurch bedingten Mangel an ATP und reduzierten Co-Fermenten.

Malonsäure hemmt den Abbau der nächsthöheren Dicarbonsäure, der Bernsteinsäure kompetitiv. Was ist darunter zu verstehen? Die reversible, kompetitive, konkurrenzmässige oder Verdrängungshemmung beruht nach Wilbrandt (67) auf einem ähnlichen Bau der Moleküle des verdrängten Substrats und des verdrängenden Hemmstoffes, sowie auf der Abhängigkeit der Hemmung von den Konzentrationen der beiden konkurrierenden Substanzen nach dem Massenwirkungsgesetz. Infolge dieser konkurrenzmässigen Hemmung erhöht Malonat auch die Bildung von Bernsteinsäure aus Pyruvat und Fumarat (68), d.h. es kommt durch den gestörten Abbau von Succinat zu einem Anstau dieses Substrates. Die ungewöhnlich starke Förderung der Fettsäuresynthese durch Bernsteinsäure lässt einen grossen Einfluss auf den Einbau von Acetat vermuten. Der Abbau dieser Säure im Zitronensäurezyklus zu Oxalessigsäure bedeutet eine Ankurbelung der Verbrennungsvorgänge. Die dadurch gewonnene Energie kann auch zur Fettsynthese verwandt werden. Die zur Synthese weiter notwendigen reduzierten Pyridincofermente und das CoA entstehen ebenfalls im CSZ. Der geringe Abfall der Aktivitäten bei den höchsten Konzentrationen ist vielleicht mit einem Überangebot an Bernsteinsäure und damit einer Gleichgewichtsverschiebung im Stoffwechsel zu erklären, denn nach Tyler (70) kann es in Gewebshomogenaten unter gewissen Bedingungen zu einer Hemmung der Verwertung von Oxalacetat durch Succinat kommen.

Eine Abschwächung des Einbaues von markiertem Acetat dadurch, dass Bernsteinsäure oder ihre Umwandlungsprodukte selbst in die Fette eingehen, fällt jedoch nicht ins Gewicht, wie Bernhard (19) in Fütterungsversuchen an Ratten mit deuteriumhaltigen Succinat nachwies.

Auch noch eine andere Beziehung zum Fettstoffwechsel besteht: Das beim Abbau ungeradzähliger Fettsäureketten als Endprodukt entstehende Propionyl-CoA kann über Methylmalonyl-CoA ————— Succinyl-CoA abgebaut werden, wie Ochoa und Mitarbeiter (69) ausführlich darlegten.

Die Glutarsäure aktiviert zum Unterschied von den anderen Säuren des Krebszyklus die enzymatische Fettsäureoxydation, wahrscheinlich über Guanosin-triphosphat, da die Synthese dieses Substrates während der Oxydation von Glutarsäure stattfindet (71).

Wesentlich stärker muss aber die Wirkung auf den Aufbau von Fettsäureketten

sein, denn der hier zu beobachtende Anstieg der Aktivitäten ist noch eindrucksvoller als bei der Bernsteinsäure. Hobbs und Koeppe (72) vertreten zwar auf Grund ihrer Versuchsergebnisse die Ansicht, der Hauptweg der Glutarsäureabbaues bestehe in einem Abbau über Acetoacetat zu Acetat und nicht in einer primären Oxydation zu α -Ketoglutarat, aber die Verwertung im CSZ, also der Abbau zu Oxalessigsäure überwiegt, zumindest bei den Versuchen mit Homogenat, doch eindeutig. Die im CSZ ausreichend freiwerdenden Mengen an Energie, reduziertem Co-Ferment und CoA bewirken eine signifikante Steigerung des Einbaues von Acetat in die höheren Fettsäuren und zwar vornehmlich des zur Verfügung stehenden radioaktiven Acetates und nicht der inaktiven durch Decarboxylierung über Acetondicarbonsäure oder Buttersäure entstehenden C₂-Bruchstücke.

Der Rückgang der Syntheseförderung bei 5 mg Säure-Zusatz ist durch den Substratüberschuss zu erklären. Die Gewichtskurve kann mit ihren unter 100 % liegenden Werten nicht als Beweis für eine Förderung der Synthese angeführt werden, die einzelnen Zunahmen sind für Wägemethoden zu gering.

Keine restlose Klarheit herrscht offenbar in der Literatur über die Wirkung der Adipinsäure im Intermediärstoffwechsel. Während einige Autoren (22, 44, 37) diese Säure als den schwer verbrennbaren mittelkettigen Dicarbonsäuren zugehörig bezeichnen, konnten Rusoff und Mitarbeiter (73) eine ausgezeichnete Verwertung feststellen. Ratten erhielten Adipinsäure 1 - C¹⁴ oder 2 - C¹⁴ per os. Innerhalb von 24 Stunden wurden bis zu 70 % des C¹⁴ als ¹⁴CO₂ ausgeatmet. Diese Steigerung der Verbrennungsvorgänge und des damit verbundenen Gewinnes an Energie und Co-Fermenten könnte die bei geringerer Konzentration bestehende Förderung der Fettsäuresynthese erklären. Adipinsäure wird nach Rusoff durch β -Oxydation abgebaut, was daraus hervorgeht, dass die Tiere C¹⁴-Bernsteinsäure nach Injektion mit Malonsäure ausscheiden. Da auch aktive Zitronensäure im Harn der Tiere gefunden wurde, kann eigentlich das Wirken dieser Dicarbonsäure über den CSZ nicht mehr in Zweifel gezogen werden. Bei höheren Konzentrationen (2 mg) werden offenbar vermehrt C₂-Bruchstücke der Adipinsäure eingebaut, denn nur so ist der Abfall der Aktivitäten und der gleichzeitige Anstieg der Gewichte zu verstehen. Die auffällige Hemmung bei 3 und 5 mg, die sich sowohl aktivitätsmässig als auch gewichtsmässig ausdrückt, kann durch Substratüberschuss nicht erklärt werden, es muss eine bisher vielleicht unbekannte spezifische Hemmung im Fermentsystem vorliegen.

Die Pimelinsäure verhält sich ähnlich wie die Adipinsäure. Ihr Eingreifen in den Zitronensäurezyklus kann jedoch nur vermutet, nicht bewiesen werden. Weitzel (44) fiel die Erhöhung der Bernsteinsäureausscheidung im Harn von Menschen auf, denen Pimelin- oder Azelainsäure verabreicht worden war. Die Erklärung dafür:

Diese ungeradzahligen Säuren werden durch β -Oxydation verkürzt und dieser Abbau endet bei Malonsäure, die dann als spezifischer Heminstoff den Anstieg von Succinat verursacht. Bis dahin war angenommen worden, dass nur der β -oxydative Abbau geradzahliger Dicarbonsäuren für erhöhte Succinurie, wie sie z.B. nach Verfütterung von Synthefett beobachtet wurde (74), verantwortlich sei. Das Absinken der Aktivitäten und der gleichzeitige Anstieg der Gewichtskurve deuten bei dieser Säure auf einen vermehrten Einbau nicht markierter, durch β -Oxydation entstehender C_2 -Bruchstücke hin.

Die Korksäure gehört nun zu den zweibasischen Säuren, die wie die homologen einbasischen Fettsäuren, offenbar aus Mangel an Fermenten, im Organismus schwer angreifbar sind. Die Fettsäuresynthese ist durchwegs gehemmt, auch eine Verdrängung des aktiven Acetates durch andere entstehende C_2 -Bruchstücke kann ausgeschlossen werden, da die Gewichtskurve ebenfalls fällt. Einzelheiten über das biochemische Wirken sind nicht bekannt.

Die übrigen schwer abzubauenen mittellängigen Säuren, die Azelain-, Sebazin-, Decan 1 - 10- und Undecandicarbonsäure hemmen die Synthese ebenfalls ganz entschieden, am auffälligsten die Decan- 1 - 10 - säure, bei der praktisch schon bei einer Konzentration von 2 mg kaum noch von Fettsynthese zu reden ist. Ob sich durch die weniger steil absinkenden Aktivitätskurven bei der Undecandicarbonsäure schon ein Übergang zu den im Körper besser verwertbaren langkettigen Dicarbonsäuren mit vielleicht günstigerer Wirkung auf den Fettaufbau andeutet, ist nicht zu entscheiden, da die Gewichtswerte bei 5 mg unter 50 % des Normalwertes fallen. Als Erklärung für die signifikanten Synthesehemmungen durch die letztgenannten Säuren müssen spezifische Wirkungen angenommen werden, deren Mechanismus und Angriffspunkte noch zu klären sind. Ausserdem scheint die Bindung mit CoA eine Rolle zu spielen, denn während Bernsteinsäure und Glutarsäure sich noch zu den reaktionsfreudigen (75) Substanzen Succinyl- und Glutaryl-CoA verbinden, ist diese Reaktion bei den höheren Homologen mit 8 - 11 C-Atomen nicht mehr möglich (76).

Vielleicht ist das unterschiedliche Verhalten der einzelnen Dicarbonsäuren auch mit Permeabilitätsunterschieden zu erklären. Nach Flaschenträger und Hosoda (37) bleiben die höheren Homologen, auch Malonsäure (61), ausserhalb der Zellen, vielleicht weil sie die Zellwand nicht so gut permeieren können wie die Bernsteinsäure, vielleicht auch weil sie gut hinein, aber auch gut wieder herausdiffundieren und weil ihre Umwandlung in der Zelle nicht in dem gleich grossen Umfang eintritt wie bei der Bernsteinsäure und dabei kein Gefälle nach dem Zellinneren zu immer wieder neu entsteht. Es könnte nach Franke (77) durchaus sein, dass aus Permeabilitätsgründen die Umsetzungsgeschwindigkeiten zugesetzter zweibasischer Säuren keine Aussagen erlauben über das Reaktionsausmass

der gleichen Substrate in der Zelle.

Während sich die eingangs besprochenen physikalisch-chemischen Eigenschaften der Dicarbonsäuren entsprechend der steigenden C-Atomzahl der Glieder innerhalb der homologen Reihe ändern, ist eine solche regelmässige Änderung bezüglich ihres Einflusses auf die Fettsäuresynthese nicht zu beobachten. Es besteht auch kein diskutabler Unterschied in der Wirkung von Säuren mit paarer oder unpaarer C-Atomzahl.

Ob die zweifellos grosse Hemmung der Fettsäuresynthese durch einige Dicarbonsäuren auch klinisch einmal eine Bedeutung erlangt, ist noch nicht abzusehen. um über ihre etwaigen antisklerotischen Effekte etwas aussagen zu können, müsste noch der Einfluss auf die Cholesterinsynthese geprüft werden, wobei aber zu berücksichtigen wäre, dass das Lipidspektrum der Gefässwand kein Abbild der Serum- oder Leberlipide ist (79) und nicht von Cholesterininhibitoren eine günstige Wirkung zu erwarten ist, sondern von solchen Substanzen, die Umsatz und Transport des Cholesterins beschleunigen. Nur dann ist zu erwarten, dass sich die Gefässwände des angehäuften Cholesterins entledigen können.

ZUSAMMENFASSUNG

- 1.) Einleitend wurde ein Überblick über die Biosynthese von Fettsäuren gegeben und dabei die β - und die Q-Oxydation besprochen, sowie eine Einteilung der Dicarbonsäuren nach ihrem bisher bekannten biochemischen Verhalten vorgenommen.
- 2.) Das zu lösende Problem stellte der unbekannte Einfluss zweibasischer Säuren auf die Fettsäuresynthese *in vitro* dar.
- 3.) Ausgangsmaterial waren Enzymsysteme aus Taubelebern, die imstande sind, aus C^{14} -Acetat Fettsäureketten aufzubauen. Neben der gewichts- und aktivitätsmässigen Bestimmung der Fettsäuresynthese wurde ständig der pH-Wert gemessen, um Abweichungen vom Syntheseoptimum auszuschalten.
- 4.) Oxalsäure fördert die Synthese bei kleinen Mengen und zeigt verminderte Einwirkung bei grösseren Zusätzen. Die Möglichkeiten einer Einschaltung in den intermediären Stoffwechselablauf werden dargelegt.
- 5.) Bei Malonsäure ist die spezifische Aktivität bei 0,5 mg Säure im Ansatz um 21 % erhöht und nimmt dann bis auf 12,5 % des Grundwertes ab. Die Kurve der Gewichte zeigt erst bei 2 mg mit 96 % ein Maximum und fällt dann ebenfalls ab bis auf 74 %. Das widersprüchliche Verhalten dieser Säure beruht auf den verschiedenen Teilnahme- und Hemmungsmöglichkeiten bei Stoffwechselumsetzungen.
- 6.) Mit Bernstein- und Glutarsäure wird ein Säurepaar besprochen, das radioaktiv messbare Förderungen von über 100 % erreicht. Die gute Verbrennbarkeit im Zitronensäurezyklus und die damit verbundene Bereitstellung von Energie und Pyridin-Co-Ferment sind eine plausible Erklärung dafür.
- 7.) Adipin- und Pimelinsäure entsprechen in ihrem Verhalten zur Fettsäuresynthese der Mittelstellung, die ihnen auf Grund ihres sonstigen Mitwirkens im Organismus schon zugesprochen war. Anfangs ist eine Förderung des Einbaues von markierten, dann des Einbaues von unmarkierten C_2 -Bruchstücken zu beobachten. Förderung der Verbrennungsvorgänge und Abbau durch β -Oxydation werden als Begründung angeführt.
- 8.) Die Säuren mit 8 - 13 C-Atomen, das sind Kork- (8), Azelain- (9), Sebazin- (10), Decan 1-10- (12) und Undecandicarbonsäure (13) wirken stark hemmend und erreichen Minima, die teilweise unter 10 % des Leerwertes liegen. Spezifische Hemmwirkungen und das Unvermögen sich mit CoA zu verbinden, dürften die Gründe dafür sein.

9.) Eine gesetzmässige Änderung in der Einwirkung auf die Fettsäuresynthese durch Dicarbonsäuren nach steigender C-Atomzahl ist nicht zu beobachten. Auch die Unterschiede bei Gliedern mit paarer und unpaarer C-Atomzahl sind nicht nennenswert.

10.) Eventuelle antisklerotische Effekte müssen in Versuchen zur Cholesterinsynthese erst gesichert werden.

Herrn Prof.Dr.W.SEITZ, der es mir ermöglichte, die vorliegende Arbeit im Isotopenlabor der Medizinischen Universitätspoliklinik München durchzuführen, gilt mein aufrichter Dank.

Sehr herzlich danke ich auch der Leiterin des Isotopenlabors, Frau Dr.Dr.Vera NAGENGAST, die durch wertvolle Hinweise und unermüdliche Unterstützung die Durchführung der Experimente wesentlich beeinflusste.

Gleichzeitig möchte ich mich auch bei den technischen Assistentinnen J.THÖRING und H.WILDE bedanken, die mir stets freundlich und hilfsbereit zur Seite standen.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Bloom, B., J.L. Chaikoff, W.O. Reinhardt, E. Entenmann,
W. Dauben: J. Biol. Chem. 184, 87 (50)
- 2) Nabatuschi, Tan: Arch. Jap. Chir. 3, 179 (59)
- 3) Bernhard, K., E. Seelig, H. Wagner: Hoppe Seyler 304, 146 (56)
- 4) Green, D.E.: Biol. Rev. 29, 330 (54)
- 5) Lynen, F. Harvey: Lect. 48, 210 (52/53)
- 6) Ashmore et al.: J. Biol. Chem. 215, 153 (55)
- 7) Berg, P.: J. Biol. Chem. 222, 991 (56)
- 8) Krebs, H.A., R.B. Clayton, H.L. Kornberg, J.M. Lowenstein,
J.R. Quayle: Documenta Geigy wiss. Tab. S. 365 (60)
- 9) Flavin et al.: Nature 176, 823 (55)
- 10) Lehninger: J. Biol. Chem. 164, 291 (46)
- 11) Langdon, Robert G.: J. Biol. Chem. 226, 615 (57)
- 12) Wakil, S.J.: J. Amer. chem. Soc. 80, 6465 (58)
- 13) Brady, R.O.: Proc. nat. Acad. Sci. USA 44, 993 (58)
- 14) Scodak, M. u. F. Lipmann: J. Biol. Chem. 175, 999 (48)
- 15) Stadtmann, E.R., M. Doudoroff u. F. Lipmann: J. Biol. Chem. 191, 377
(51)
- 16) Annick Louédec: C. r. Acad. Sci. 246, 1619 (58)
- 17) Verkade, P.E., M. Elzas, J. van der Lee, H.H. de Wolf,
A. Verkade-Sandbergen und D. van der Sande: Hoppe Seyler 215, 225
(33)
- 18) Flaschenträger, B. und K. Bernhard: Hoppe Seyler 238, 221 (36)
- 19) Bernhard: Helv. Chim. Acta, 24, 1412 (41)
- 20) Verkade, P.E., J. van der Lee und K. Holwerda: Hoppe Seyler 234, 21
(35)
- 21) Bernhard, K. und M. Andreae: Hoppe Seyler 245, 103 (37)
- 22) Lang, K. und A.R. Bartsch: Biochem. Z. 323, 462 (53)
- 23) Brady, R.O. und S. Gurin: J. Biol. Chem. 196, 421 (52)
- 24) v. Brand, V., E. Helmreich: Biochem. Z. 328, 146 (56)
- 25) Entenmann, C., S.R. Lerner, J.L. Chaikoff und W.G. Dauben:
Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 70, 364 (49)
- 26) Brubacher, G., M. Just, H. Bodur und K. Bernhard:
Hoppe Seyler 304, 179 (56)
- 27) Weinhouse, S. u. B. Friedmann: J. Biol. Chem. 191, 707 (51)
- 28) Just, M., K. Bernhard: Hoppe Seyler 308, 264 (57)
- 29) Franke, W. und K. Hasse: Hoppe Seyler 249, 231 (37)
- 30) Thomas, K., H. Kalbe: Hoppe Seyler 293, 239 (53)

- 31) Wiswakarma, P. und W.D. Lotspeich: J. clin. Invest.: 38, 414 (59)
- 32) Nakada, H.J., J.B. Wolfe u. R.N. Wick: J. Biol. Chem.: 266, 145 (57)
- 33) Hosoya, N. u. N. Kawada: J. Biochemistry (Tokyo) 45, 363 (58)
- 34) Litson, N. u. J.A. Stolen: Proc. Soc. exp. Biol. Med. 74, 451 (50)
- 35) Tietz, A. u. G. Popjak: Biochem. J. 60, 155 (55)
- 36) Krebs, H.A.: Ann. Rev. Biochem. 19, 417 (50)
- 37) Flaschenträger, B. u. T. Hosoda: Hoppe Seyler 282, 215 (47)
- 38) Weitzel, G.: Hoppe Seyler 282, 174 (47)
- 39) Thomas, K., H. Kalbe, Junji Nagai, K. Stalder: Hoppe Seyler 308, 213 (57)
- 40) Flavin, M.: Federation Proc. 14, 210 (55)
- 41) Stern, Th. et al.: J. American chem. Soc. 75, 1517 (53)
- 42) Kutscher, W. u. Fr. Krabbenhöft: Hoppe Seyler 282, 54 (45)
- 43) Ikeziri, Mitio: Kumamoto Med. J. 9, 41 (56)
- 44) Weitzel, G.: Hoppe Seyler 282, 185 (47)
- 45) Rothstein, M.: Federat. Proc. 11, 278 (52)
- 46) Rothstein, M., L.L. Miller: J. Amer. chem. Soc. 75, 4371 (53)
- 47) Verkade, P.E. u. J. van der Lee: Hoppe Seyler 227, 213 (34)
- 48) Klenk, E.: Hoppe Seyler 302, 268 (55)
- 49) Verkade, P.E., J. van der Lee u. H. van Alpen : Hoppe Seyler 250, 47 (37)
- 50) Smith, H.G.: J. Biol. Chem. 103, 531 (33)
- 51) Bernhard, K. u. F. Gloor: Helv. Chem. acta 36, 296 (53)
- 52) Stevens, I. u. J.L. Chaikoff: J. Biol. Chem. 193, 465 (51)
- 53) Bernhard, K.: Helv. Chim. acta 24, 1412 (41)
- 54) Chaikoff, I.L. et al.: J. Biol. Chem. 194, 413 (52)
- 55) Burns, I.I., H.B. Burch u. C.G. King: J. Biol. Chem. 191, 501 (51)
- 56) Hellmann, L. u. I.I. Burns: Fed. Proc. 14, 225 (55)
- 57) Müller, P.B.: Hoppe Seyler 256, 75 (38)
- 58) Archer, H.E., A.E. Dormer, E.F. Slowen, R.W. Watts: Brit. Med. J. 5064, 175 (57)
- 59) Silbergeld, Sam: Toxicol. appl. Pharmacol. 2, 220 (60)
- 60) Leuthardt, F.: Lehrb. d. physiolog. Chemie 14. Aufl. Walter de Gruyter u. Co., Berlin S. 274 (59)
- 61) Wick, A.N., Jack B. Wolfe u. H.I. Nakada: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 93, 150 (56)
- 62) Kline, D.L. u. H.A. de Luca: Canad. J. Biochem. a. Physiol. 34, 429 (56)
- 63) Ganguly, J.: Biochem. biophys. Acta (Amst.) 40, 110 (60)

- 64) Chiosa, L., S. Dumitrescu, K. Haulica u. St. Simion:
Stud. Cerat. Fiziol. 3, 349 (58)
- 65) Quastel, I.H. u. W.R. Wooldridge: Biochem. J. 22, 689 (28)
- 66) Forssmann, S.: Actas physiol. scand. Vol. 2 Suppl. V S. 101 (41)
- 67) Wilbrandt, W.: Therap. Umschau 13, H. 12, S. 292 (56)
- 68) Stoppani, A.O.M., S.L.S. de Favelukas u. L. Conches:
Arch. of Biochem. a. Biophysics 75, 453 (58)
- 69) Beck, W.S. and Severo Ochoa: J. Biol. Chem. 232, 931 (58)
- 70) Tyler, D.B.: Biochem. J. 76, 293 (60)
- 71) Rossi, C.R.: Gion. Biochim. 6, 331 (57)
- 72) Hobbs, D.C. and R.E. Koeppe: J. of Biol. Chem. 230, 655 (58)
- 73) Rusoff, I.I., R.R. Baldwin, F.J. Domingues, C. Monder
W.J. Ohan, R. Thiessen jr.: Toxicol. appl. Pharmacol. 2, 310 (60)
- 74) Hansen, H.: Ernährung 6, 273 (14)
- 75) Kaufmann, S.: Phosphorus Metabolism 1, 370 (51)
- 76) Kornberg, A. u. W. Pricer: J. Biol. Chem. 204, 329 (53)
- 77) Franke, W.: Chemie 56, 73 (41)
- 78) Lang, K. u. K.H. Bässler: Biochem. Z. 323, 456 (53)
- 79) Weitzel, G., Eckhart Buddecke, H. König: Hoppe Seyler
310, 139 (58)

LEBENS LAUF

Als Sohn des Arztes Dr.med.Herbert Goede und seiner Frau Jutta, geb. Lüdecke, wurde ich am 7. Juli 1936 als erstes von drei Kindern in Berlin geboren.

Das erste Volksschuljahr verbrachte ich in Berlin, die weiteren in Wernigerode am Harz und Neukirchen H1-Blut. Von 1948 an besuchte ich drei Jahre das Gymnasium in Cham/Opf. Von 1951 bis 1957 das Ludwigsgymnasium in München, wo ich auch die Reifeprüfung ablegte.

Ab 1. November 1957 studierte ich Medizin an der Universität München, bestand dort im Frühjahr 1959 das Vorphysikum und im Sommer 1960 das Physikum. An der gleichen Universität belegte ich die klinischen Semester und bestand am 10. August 1964 das Staatsexamen.

